Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.

# Über neuere Methoden des Tuberkulose-Nachweises.

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayerischen Maximilians-Universität München

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

**Maximilian Keins**
aus Königshütte.

München 1914.
Druck von R. Oldenbourg.

Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.

# Über neuere Methoden des Tuberkulose-Nachweises.

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayerischen Maximilians-Universität München

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

**Maximilian Keins**
aus Königshütte.

München 1914.
Druck von R. Oldenbourg.

Referent: Geh. Ober-Medizinalrat Prof. Dr. Max v. Gruber.

Während meiner Tätigkeit an der bakt. Untersuchungsanstalt zu München hatte ich reichlich Gelegenheit, mich mit der Tuberkulosediagnostik zu befassen. Meine Studien erstreckten sich hauptsächlich auf die Nachprüfung einiger in neuerer Zeit angegebenen Methoden des Tuberkulosenachweises, und zwar hauptsächlich auf die Muchsche Färbemethode und den Tierversuch.

Voranschicken möchte ich eine Statistik der Tuberkuloseuntersuchungen an den preußischen und bayerischen Untersuchungsämtern, wie ich sie auf Grund der »Veröffentlichung der Medizinal-Verwaltung Preußens 1910« (48) und der »Jahresberichte der Kgl. bayerischen Untersuchungsanstalten 1911« (24) in folgender Tabelle zusammengefaßt habe.

## Statistik.

Die Statistik der an den bakt. Untersuchungsämtern eingesandten Proben zeigt, daß ein großer Teil der gewünschten Untersuchungen auf Tuberkulose lautet. Aus nachstehender Tabelle I sieht man die absolute Zahl sämtlicher Untersuchungen (Kol. 2), die Zahl der auf Tuberkulose lautenden Untersuchungen (Kol. 3), das Prozentverhältnis der Untersuchungen auf Tuberkulose zur Gesamtzahl der Untersuchungen (Kol. 4), die Zahl der positiv

**Tabelle**

| Name der Untersuchungsanstalt | Gesamtzahl der Untersuchung. | Untersuchung. auf Tbk. | Proz. Verhältnis der Tbk.-Untersuchungen zu d. übrigen | Zahl der positiv. Tbk.-Untersuchung. | % positiv | Zahl der negativ. Tbk.-Untersuchung. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Gumbinnen | 4331 | 660 | 10,52 | 170 | 25,75 | 490 |
| Danzig | 2316 | 355 | 15,32 | 81 | 22,82 | 274 |
| Potsdam | 5626 | 461 | 8,19 | 94 | 20,39 | 367 |
| Stettin | 4016 | 824 | 25,18 | 219 | 26,58 | 605 |
| Bromberg | 3296 | 659 | 20,00 | 165 | 25,04 | 494 |
| Breslau | 5574 | 838 | 15,03 | 186 | 22,20 | 652 |
| Magdeburg | 5157 | 1802 | 34,94 | 238 | 13,20 | 1564 |
| Hannover | 6357 | 1623 | 25,37 | 330 | 20,33 | 1293 |
| Stade | 7710 | 994 | 12,89 | 216 | 21,73 | 778 |
| Münster | 4769 | 603 | 12,64 | 216 | 35,82 | 387 |
| Koblenz | 5095 | 454 | 8,91 | 86 | 18,94 | 368 |
| Düsseldorf | 5566 | 452 | 8,19 | 71 | 15,70 | 381 |
| Sigmaringen | 115 | 55 | 47,82 | 12 | 21,81 | 43 |
| Institut für Infektions-Krankheiten | 1858 | 165 | 8,88 | 37 | 22,42 | 128 |
| Hygien. Institut Posen | 10585 | 930 | 8,78 | 206 | 22,15 | 724 |
| Hygien. Institut Beuthen | 3820 | 399 | 10,44 | 110 | 27,56 | 289 |
| Trier | 3025 | 1401 | 46,31 | 325 | 23,19 | 1076 |
| Königsberg | 7298 | 947 | 12,97 | 197 | 20,80 | 750 |
| Halle | 22771 | 7288 | 32,00 | 1509 | 21,26 | 5779 |
| Kiel | 8263 | 2199 | 25,28 | — | — | — |
| Göttingen | 6854 | 1688 | 29,64 | — | — | — |
| Marburg | 3155 | 737 | 23,36 | 171 | 23,04 | 566 |
| Gelsenkirchen | 20103 | 2388 | 11,87 | 551 | 23,07 | 1837 |
| Bochum | 2442 | 285 | 11,67 | 51 | 17,82 | 234 |
| Duisburg | 4011 | 793 | 19,52 | 177 | 22,32 | 616 |
| Essen | 4975 | 1432 | 20,88 | 322 | 22,48 | 1110 |
| Hagen | 2942 | 620 | 21,00 | 160 | 26,12 | 460 |
| Dortmund | 3824 | 904 | 23,64 | 172 | 19,02 | 732 |
| Elberfeld | 1937 | 247 | 12,75 | 83 | 33,60 | 164 |
| Barmen | 1371 | 599 | 43,69 | 114 | 19,03 | 485 |
| Altona (1911 ab Februar) | 560 | 226 | 40,35 | 38 | 16,81 | 188 |
| Erlangen | 955 | 58 | 6,07 | 12 | 20,69 | 46 |
| Würzburg | 827 | 137 | 16,56 | 42 | 30,66 | 95 |
| München | 4869 | 404 | 8,32 | 89 | 22,03 | 315 |

I.

| Sputum | | | | Urin | | Sonstige Krankheits-Produkte | | Milch | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Anzahl | positiv | % positiv | negativ | Anzahl | positiv | Anzahl | positiv | Anzahl | positiv |
| 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| 657 | 170 | 25,87 | 487 | 1 | — | 2 | — | — | |
| 347 | 81 | 23,05 | 266 | 6 | — | 2 | — | | |
| 457 | 94 | 23,34 | 363 | 1 | — | 2 | — | 1 | |
| 818 | 218 | 25,42 | 600 | 2 | 1 | 4 | — | | |
| 648 | 164 | 26,65 | 484 | 7 | 1 | 4 | — | | |
| 832 | 185 | 22,23 | 647 | 3 | 1 | 3 | — | | |
| 1802 | 238 | 13,20 | 1564 | — | — | — | — | | |
| 1589 | 225 | 14,16 | 1364 | 26 | 4 | 8 | 1 | | |
| 935 | 203 | 21,71 | 732 | 16 | 6 | 29 | 7 | 14 | |
| 578 | 209 | 36,15 | 369 | 9 | 3 | 16 | 4 | | |
| 433 | 84 | 19,40 | 349 | 8 | — | 13 | 2 | | |
| 445 | 71 | 15,95 | 374 | 4 | — | 3 | — | | |
| 53 | 12 | 22,64 | 41 | 1 | — | 1 | — | | |
| 165 | 37 | 22,42 | 128 | — | — | — | — | | |
| 865 | 200 | 23,12 | 665 | 35 | 2 | 29 | 4 | 1 | |
| 381 | 110 | 28,87 | 271 | — | — | — | — | — | |
| 1401 | 325 | 23,19 | 1076 | — | — | — | — | | |
| 947 | 197 | 20,80 | 750 | — | — | — | — | | |
| 7160 | 1491 | 20,82 | 5669 | 46 | 12 | 81 | 6 | 1 | |
| — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| — | — | — | — | — | — | — | — | | |
| 737 | 171 | 23,20 | 566 | — | — | — | — | | |
| 2268 | 538 | 23,72 | 1730 | 52 | 6 | 68 | 7 | | |
| 268 | 41 | 15,30 | 227 | 6 | 3 | 11 | 7 | | |
| 742 | 163 | 21,96 | 579 | 14 | 4 | 33 | 10 | 4 | |
| 1398 | 304 | 21,74 | 1094 | 32 | 17 | 3 | 1 | | |
| 581 | 151 | 22,17 | 430 | 14 | 1 | 25 | 8 | | |
| | | — | — | | | | | | |
| 233 | 74 | 31,75 | 159 | 3 | 3 | 11 | 6 | | |
| 43 | 12 | | 31 | 6 | — | 1 | — | | |
| 127 | 40 | | 87 | 4 | — | 6 | 2 | | |
| 372 | 80 | | 292 | 32 | 9 | | | | |

(Kol. 5), die Zahl der negativ (Kol. 7) ausgefallenen Untersuchungen der einzelnen Anstalten. Das Prozentverhältnis der pos. ausgefallenen Untersuchungen (Kol. 6) zu der Zahl der auf Tuberkulose lautenden Untersuchungen (Kol. 8) zeigt, daß der weitaus größte Teil der Tbk.-Einsendungen Sputa sind, während die Urine (Kol. 12) einen viel geringeren Teil ausmachen. Den noch übrigbleibenden kleinen Rest habe ich zusammengefaßt in Kol. 14 unter dem Begriff »Sonstige Krankheitsprodukte«. Es sind dieses: Eiter-, Blut- und Stuhlproben, Kniegelenkspunktate, Pleuraexsudate, Cerebrospinalflüssigkeit u. a. m. Einige wenige Anstalten erhielten außerdem Milch zur Untersuchung auf Tbk. (Kol. 16). Die Zahl der Tbk.-Untersuchungen ist an den einzelnen Anstalten sehr verschieden. Prozentualiter am meisten Tbk.-Einsendungen haben Sigmaringen (47,82%), Trier (46,31%), Barmen (43, 69%) und Altona (40, 35%). Diese Anstalten haben die kleinsten Zahlen der Gesamtuntersuchungen, z. B. bei Sigmaringen mit 150 Einsendungen lauten auf Tbk. 55, das ist fast die Hälfte. Ähnlich verhält es sich mit Altona und Barmen. Jedoch auch bei den Anstalten mit großer Einlaufsziffer spielen die Tbk.-Untersuchungen eine große Rolle. Halle mit der größten Einsendungszahl (22 771) hat 32,00% davon auf Tbk. zu untersuchen. Magdeburg 34,94%, das ist ein Drittel der Untersuchungen, während die Anstalt mit zweitgrößter Einlaufsziffer, Gelsenkirchen, nur 11,87% Tbk.-Untersuchungen hat. Am kleinsten sind prozentual die Zahlen in Potsdam, Koblenz, Düsseldorf, dem Institut für Infektionskrankheiten, Posen, München mit ca. 8% und Erlangen mit nur 7%. Die Differenzen in den Zahlen sind von den jeweiligen Verhältnissen abhängig, denn es ist klar, daß Orte mit Tbk.-Fürsorgestellen einerseits eine größere absolute Zahl, anderseits aber einen geringeren Prozentsatz positiver Untersuchung haben müssen.

Die Zahl der Tbk.-Untersuchungen betrug demnach im Jahre 1910 in Preußen 9780, davon waren pos. 2084, d. h. 21,03%. In Bayern, wo die Ämter erst im Februar 1911 eröffnet wurden, betrug im Jahre 1911 die Zahl der Tbk.-Untersuchungen 542 mit 132 pos., d. h. 24,35% positiven.

Die an den bakt. Untersuchungsämtern gebräuchlichen Nachweisverfahren zerfallen in drei Gruppen: I. Der Färberische Nachweis des T.-B., II. die Anreicherungsverfahren, III. der Tierversuch.

## Die Färbemethoden.

Allgemeiner Beliebtheit erfreut sich von den Färbemethoden die Ziehl-Neelsensche Färbung, während ältere Methoden, wie z. B. die Ehrliche Färbung, verlassen sind. In den letzten Jahren hat dagegen eine neue Methode viel von sich reden gemacht, über die das folgende Kapitel handeln soll. Es ist die Muchsche Färbung. Much selbst bezeichnet seine Methode als »prolongierte Gramfärbung«.

Daß der Tuberkelbazillus nach Gram darstellbar ist, ist schon seit langem bekannt. Jedoch wurde diagnostisch hierauf kein Wert gelegt. Erst nachdem Much seine neuen Färbemethoden angab, die auf einer Modifikation der Gramfärbung beruhen, wurden auch von anderer Seite Grammodifikationen angegeben. Unna stellt in einer chemischen Farbenstudie fest, daß für die Grammethoden nur die Rosanilinfarben, und zwar Gentianaviolett, Methylviolett und Viktoriablau geeignet sind. Der wahrscheinliche Grund dafür sei der, daß die erwähnten Farben eine ausgesprochene Affinität zum Jod haben. Bethe g[3]) kam zum gleichen Resultat bei Dahlia, welches er auch in eine Grammodifikation einführt.

Die einfache Gramfärbung geht folgendermaßen vor sich:

I. Färbung mit Anilinwasser-Gentianaviolett oder Karbol-Gentianaviolett unter Erwärmen mindestens zwei Minuten lang. — II. Eine halbe bis zwei Minuten Lugolsche Lösung (Solve Jodi 1,0 Kal. jodat., 2,0 in Aqu. dest., 5,0 nach Lösung adde Aqu. dest. ad 300,0) einwirken lassen. — III. Entfärben des Präparats in Alkohol abs. bis keine Farbwolken mehr sichtbar sind. — IV. Gegenfärbung mit Safranin, Vesuvin oder verdünntem Fuchsin (Kurz!). — V. Abspülen in Wasser, Trocknen, Zedernöl etc.

Much gab zur Färbung von T.-B. folgende drei verschiedene Modifikationen der Gramfärbung an:

Much 1: I. Färbung mit Anilinwasser-Gentianaviolett; II. Lugol fünf Minuten; III. Entfärbung mit abs. Alkohol und Nelkenöl.

Much 2: I. Methylviolett B. N. 10 ccm gesättigte alkoholische Lösung in 100 ccm 2 proz. Karbolwasser, Färben 24 bis 48 Stunden oder 2 Minuten

beim Erhitzen. (Diese Farblösung muß oft filtriert und wenigstens alle drei Tage frisch bereitet werden.) — II. Lugolsche Lösung 5 Minuten. — III. Abspülen mit Aqu. dest. — IV. 5 proz. Salpetersäure 1 Minute. — V. 3 proz. Salzsäure 10 Sekunden. — VI. Entfärben in Azeton-Alkohol aa. — VII. Gegenfärbung mit stark verdünnter Fuchsinlösung oder Bismarckbraun.

Much 3: I. Färben wie bei Much 2. II. Jodkaliumwasserstoffsuperoxyd (Rp. Kalium jodat. 5,0, 2% Hydrogen. peroxyd. ad 100,0) 2 Minuten. III. Entfärben in abs. Alkohol. IV. Gegenfärbung wie Much 2.

Außerdem wurden neuere Grammodifikationen mitgeteilt von Günther, Unna, Kutscher, Nicolle, Weigert-Kühne und von Much ca. zehn. Alle verfolgen neben Vereinfachung der Methode den Zweck, die Farbniederschläge zu eliminieren, auf deren spezielle Bedeutung gerade bei den Grammethoden noch später zurückzukommen sein wird.

Schon Koch hat darauf hingewiesen, daß die T.-B. nicht immer einheitliche Stäbchen sind, sondern oft fragmentiert erscheinen. Jedem Untersucher, der viele T.-B. gesehen hat, werden diese fragmentierten Formen selbst bei der üblichen Ziehlfärbung aufgefallen sein. Und Spengler[44]) teilte 1905 aus seinen Befunden mit: Es gäbe Sputa, die der Ungeübte nicht für Sputa eines Phtisikers halten würde, und dennoch sähe man darin bisweilen »T.-B.-Splitter«, die rot gefärbt sind. Er schreibt: »Aus vereinzelten isoliert auftretenden Splittern wage ich nicht immer die Diagnose ‚Splitter' zu machen, wohl aber, sobald die Splitter in Gruppen gefunden werden.«

Es ist sehr naheliegend, wenn diese von Spengler als Splitter bezeichneten Gebilde in Beziehung gebracht worden sind zu den von Much später beschriebenen »Granulaformen«.

Morphologisches. Im Jahre 1907 veröffentlichte Much seine Befunde[32]) über eine neue von ihm entdeckte Form des Tbk.-Virus, das er im Material verschiedenster Herkunft fand und das sich nur durch die prolongierte Gramfärbung gelegentlich in Fällen darstellen läßt, die sonst keine säurefesten Stäbchen aufweisen. Dieses Virus, das in feinsten Körnchen besteht, nennt er »Granula«. Sie kommen in verschiedener Anordnung vor. Bald in feinsten Körnchenreihen (Stäbchenform), bald diffus, bald in Häufchen angeordnet. Much s Angaben werden bestätigt

von Caan[10]), Betheg[3]) [4]), Deycke[12]), Wirths[53]), Leschke[29]), Weiß[50]). Dieser fand solche Formen des Tbk.-Virus in mehreren Fällen von Lupus vulg. und in käsigen Lymphdrüsen. Boas und Dietlefsen[8]) konnten in zwanzig Fällen von Lupus vulg. der Haut nur in vier Fällen nach Ziehl-Neelsen färbbare Stäbchen finden, während in allen Fällen Muchsche Granula und zwar besonders in den Riesenzellen vorhanden waren. P. Wolff[55]) konnte in einzelnen Fällen, die keinerlei sonstige tuberkulöse Veränderung bei der Sektion aufwiesen und deren Lymphdrüsen sich histologisch frei von Tbk. erwiesen, im Drüsenausstrich die Muchsche Form des T.-B. nachweisen. Wolff[55]) spielt diese Befunde für den hohen Wert der Muchschen Entdeckung aus. Man könnte zwar darüber auch anderer Meinung sein und daraus schließen, daß eben die Muchschen Granula auch in Fällen vorkommen, die absolut keine Tbk. sind. Wolff teilt aber weiter mit, daß er in einem Falle — es handelt sich um die Mesenterialdrüsen von Kindern, deren Organe sonst keine Tbk. aufwiesen und die an anderen Krankheiten gestorben waren — eine Drüse steril entnahm, die eine Hälfte mikroskopisch untersuchte, und als diese Untersuchung nach Ziehl negativ ausfiel, nach Much aber vereinzelte T.-B. aufwies, die andere Hälfte auf ein Meerschweinchen verimpfte, worauf dieses Tier nach 28 Tagen nach Ziehl färbbare Stäbchen aufwies.

Stefanie Rosenblatt[40]) fand, »daß in bestimmten Stadien der Krankheit die granuläre Form des T.-B. die säurefesten Stäbchen überwiegt«. Oft zeigten sich in Sputa, die erst nur Muchsche Form zeigten, schon nach 8 Tagen später säurefeste Stäbchen. Mit der Abnahme der säurefesten Stäbchen stieg die Anzahl der granulären Form und umgekehrt. Ähnliche Befunde hat Schulz[47]). Inwieweit diese Beobachtungen richtig sind, kann aus leicht begreiflichen Gründen nur an der Klinik, wo das Sputum von Patienten jederzeit zu haben ist, nachgeprüft werden.

Andere Autoren bestreiten, daß durch die Muchsche Färbmethode eine besondere Art des Tbk.-Virus darstellbar sei als durch die Ziehlfärbung. Dazu gehören: Dold[14]), Rosenblat[41]) Eisenberg[15]), Bittrolff und Momose[6]) und andere mehr.

Marmann hat in seinem sehr großen Material keine Stäubchenform beobachten können[31]).

Daß die Much sche Form aber keineswegs spezifisch für Tbk. ist, das betonen Jacobitz und Kayser[26]). »Übrigens haben wir nach Much und Hatano sehr schöne Formen freier Granula und solcher in säurefesten Bazillen nachgewiesen, die aus dem Innern von Trompeten stammten und welche sicher keine T.-B. waren.«

Wie ist nun das Zustandekommen zweier so verschiedenartiger Bilder des T.-B., wie sie durch die Ziehl färbung in Form von Stäbchen und in der Much färbung in Form von Granula erzeugt werden, zu erklären?

Much[33]) nimmt im T.-B. zwei verschiedene Substanzen an. Eine nach Ziehl und eine nach Gram darstellbare. Indem der Bazillus in verkästen Organen das Fett verliert, wird er säureschwach und nur noch nach Gram darstellbar. Dafür würde auch der bereits auf Seite 9 erwähnte Tierversuch Wolffs zu verwerten sein, zu dem Wolff[55]) bemerkt: »Falls man also aus einem einzigen Tierversuch mit allem Vorbehalt etwas schließen darf, so wäre es das, daß die granuläre, nur nach Gram färbbare Form des T.-B. sich auf dem günstigen Nährboden des Meerschweinchens zu nach Ziehl färbbaren Bazillen umgewandelt hätte, eine Möglichkeit, die Much bei seinen Untersuchungen schon erwiesen hat.«

Much[33]), Weiß[51]), Deycke[12]) halten die nach Gram darstellbaren Substanzen für Eiweißsubstanzen. Aronson[1]) aber ist es gelungen, mittels Trichloräthylen die T.-B. und die Granula zum Verschwinden zu bringen, und er schließt hieraus, daß die Annahme der »Hamburger Schule« (Much, Weiß, Dycke), es handle sich um eine besondere Eiweißsubstanz, hinfällig ist, da Trichloräthylen nur Fette und Wachse löst. Dasselbe Resultat erhielt Krylow[28]). Daraufhin erwidert Deycke[12]): Wenn Aronson mit seiner Behauptung recht hätte, daß die Granula aus Wachs bestehen, so müßten sie ja auch säurefest sein, da dieses aber nicht der Fall ist, so müsse man neben Fetten und Wachsen auch eine Eiweiß- oder N-Komponente der Granula

annehmen. Eisenberg[15]) kommt bei der ungeklärten Sachlage zu dem Schlusse: »Das Beste wird wohl sein, bis auf weiteres nur rein morphologisch von einer ‚Grundsubstanz' und einer ‚Granularsubstanz' der Stäbchen zu sprechen.« Deycke, Much und Weiß haben auch festgestellt, daß die granuläre nach Ziehl nicht färbbare Form des T.-B. durch Antiformin in keiner Weise angegriffen wird, und Weiß schließt daraus, daß durch die Verbindung der Eiweißsubstanz und einer anderen Substanz die Granula eine ebenso große Resistenz gegen Chemikalien erhalten, wie sie die Fett- und Wachssubstanzen der T.-B. besitzen.

Infolgedessen ist es erklärlich, wenn Much und seine Anhänger, Weiß und Deycke, Wirths[54]) und Schottmüller[46]) die Granula für die resistenteste Wuchsform des T.-B. halten, sie für voll entwicklungsfähig und voll virulent erklären. Den Entwicklungsgang des T.-B. stellt sich Much so vor, daß im käsigen, von der Ernährung mehr oder weniger abgeschnittenen tuberkulösen Gewebe oder im tuberkulösen Eiter die Säurefestigkeit des T.-B. leidet. Dadurch zerfällt der Bazillus in Körnchen, die nur nach Gram darstellbar sind. Gelangen diese Körnchen wiederum in die Zirkulation oder in gesundes Gewebe, so entstehen aus ihnen Stäbchen, die zunächst nur nach Gram färbbar sind. Hier werden sie mit Fett- und Wachssubstanzen wieder imprägniert und dadurch wieder säurefest. Fontes[18]) ist in der Auffassung der Granula ein wenig zurückhaltender. »Ich glaube hieraus schließen zu müssen, daß die granuläre Form wenn auch vielleicht nicht eine charakteristische Resistenzform, so doch zum mindesten eine Form von der größten Widerstandsfähigkeit ist, welche der T.-B. annehmen kann.« Betheg[3]) [4]) setzt die Much schen Granula den Spengler schen Splittern und seinen T.-B.-Sporen gleich und bezeichnet sie mit Knoll[27]) und Gasis[21]) als Sporen oder sporoide Körperchen. Spengler[44]) selbst hatte zunächst die Splitter für Involutionsformen »mit erheblich herabgesetzten Lebens- und Entwicklungsfähigkeiten und entsprechend geringerer Virulenz« aufgefaßt und definierte sie als »eine an der Grenze der Vitalität angelangte Wuchsform des

T.-B. bzw. Perlsucht-Bazillus.« Kitasato (zit. n. 2) hält die Granula für Degenerationsformen und abgestorbene Gebilde; ebenso Schulz[47]) und Geipel[23]). Behring und Eisenberg[15]) sprechen von bakteriolytischen Zerfallsprodukten. Bittrolff und Momose[6]) erkennen, wie bereits oben erwähnt, die Existenz einer besonderen nur nach Much darstellbaren Form des T.-B. nicht an. Denn sie fanden die nach Much gefärbten T.-B. nach Umfärbung mit Ziehl stets säurefest. In den nach Ziehl negativen Fällen ergab die Färbung nach Much auch stets negative Resultate, und in der von Weiß angegebenen Doppelfärbung[51]), die eine Kombination zwischen der Ziehl- und Much färbung ist, zeigten die Granula stets einen kurzen, säurefesten Fortsatz und stellten in der Umfärbung nach Ziehl kurze, säurefeste Stäbchen dar. Kayser[26]) berichtet: »Wir spritzten zwei Tieren lediglich granulaformenhaltiges Material ein, ohne sie damit tuberkulös zu machen. Einmal jedoch gelang uns dies. Klinisch verlief der Fall, von welchem der letzterwähnte Auswurf stammte, sehr leicht.« Rosenblat[41]) äußert sich über die Bedeutung der Granula: »I. Niemals sind in käsigen tuberkulösen Massen irgendwelche besondere Formen der Tbk. zu finden. II. Die Tuberkelbazillen sind fast nie in den Zellen oder abgekapselten ausgeheilten Partien zu finden. III. Der Käse der zerfallenen Organe, in dem Granula auftreten, enthält auch T.-B. IV. Sind die T.-B. spärlich, so sind auch die Granula spärlich.« Darauf erwidert Leschke[29]): »Man dürfe keineswegs erwarten, Muchsche Granula in einem Material zu finden, welches schon nach Ziehl färbbare Bazillen ergab.« Deycke und Much[13]): »Die Muchschen Granula sind nicht zu identifizieren mit den zahlreichen säurefesten Körnchen, die sich in den Leibern der T.-B. oder auch für sich, d. h. außerhalb des Stäbchenverbandes, finden. Diese Körnchen sind fast so lange bekannt wie der T.-B. selbst. Jedem, der einige Male tuberkulöses Sputum untersucht hat, müssen sie auffallen. Dagegen können die echten Muchschen Granula einwandfrei nur in solchen tuberkulösen Geweben und Sekreten beobachtet und studiert werden, die mit anderen Färbemethoden überhaupt kein Virus erkennen lassen.«

Praktische Verwertbarkeit der Methode. Bei den meisten Autoren, die sich mit der Muchschen Färbung beschäftigten, ist alsbald das Bestreben bemerkbar geworden, festzustellen, ob die Muchsche Färbung, die auf theoretischem Gebiete sehr anregend gewirkt hat, auch praktisch verwertbar ist, besonders ob sie der bisher üblichen Ziehlfärbung überlegen ist, und man hat einerseits zahlenmäßige Vergleiche beider Methoden angestellt, anderseits die sonstigen Qualitäten der beiden Färbungen miteinander verglichen.

Leschke[29]) verurteilt zwar entschieden den zahlenmäßigen Vergleich mit der bereits obenerwähnten Begründung, daß in Präparaten, die schon säurefeste Stäbchen enthalten, Granulaformen nicht zu erwarten seien, und hält auf diese Weise die ganze Fragestellung für verfehlt. Sie wäre es aber auch dann noch nicht, wenn alle Untersucher darin einig wären, daß neben nach Ziehl färbbaren Stäbchen granuläre Formen nicht gefunden werden. Überdies muß man zu einer praktischen Bewertung einen Maßstab haben und wird also nur so bei Vergleichung der beiden Methoden nach den verschiedenen Gesichtspunkten zu einem unparteiischen Urteil gelangen können, wenn man Material ohne Auswahl nach beiden Methoden untersucht und die gewonnenen Resultate miteinander vergleicht —, wofern man nicht von vornherein, nur mit den theoretischen Folgerungen, die eventuell aus der Muchschen Färbung abgeleitet werden könnten, sich begnügend, auf ihre praktische Verwertung verzichten will.

Der Vorwurf, die Muchfärbung sei für die Praxis zu kompliziert, dürfte nicht sehr ins Gewicht fallen.

Von vielen sind Einwände gemacht worden gegen die praktische Anwendbarkeit wegen der Verwechslungsmöglichkeit der Granula mit Zelldetritus, Pigmenten, Farbniederschlägen, Kokken und Stäbchen, die keine T.-B. sind, so von Liebermeister[30]), Dold[14]), Schulz[47]), Wolff[55]), Eisenberg[15]), Berger[5]), Caan[10]), welcher sagt, daß man bei der Muchfärbung stets Niederschläge findet, auch bei der sorgfältigsten Filtration. Beyer[5]) und Frei[20]) wollen die Verwechslung mit anderen Bakterien vermieden sehen bei vorheriger Auflösung des Materials mittels

Antiformin, und Weiß schreibt »durch die Antiforminfestigkeit unterscheiden sich die T.-B. prinzipiell von allen ähnlichen Gebilden«. Daß dies aber keineswegs der Fall ist, hat bereits Weihrauch[52]) betont. Liebermeister[30]) und Eisenberg[15]) meinen, man dürfe diagnostischen Wert nur auf die Körnchenreihen legen, und zwar nur, wenn dieses Material sonst frei von anderen Bakterien ist, soll dieser Befund Beweiskraft haben. »Die Stäbchenverbände, so äußerst interessant sie auch nach der theoretischen Seite sind, sind noch zu wenig geklärt und zu vieldeutig, als daß man schwerwiegende Diagnosen in der Praxis einzig daraufhin stellen dürfte«[15]). Auch Rosenblat warnt vor einer Diagnosestellung auf Grund der Granula. »Bei gewisser Übung kann man nie vollständig sicher sein, ob die blaugefärbten Stäbchenverbände wirklich T.-B. sind oder nicht vielleicht andere säurefeste oder grampositive Bakterien und Kokken[41]).«

Der quantitative Vergleich zwischen Ziehl- und Muchfärbung ist von verschiedenen Seiten aufgenommen worden. Dold und Geipel[23]) fanden, daß nach Ziehl und Much in gleichviel Bazillen enthaltendem Material auch gleichviel Bazillen sichtbar gemacht werden. Marman[31]) stellte fest, daß nach Much mehr Bazillen gefärbt werden als nach Ziehl. Aronson[1]) hat das gleiche Ergebnis. Der Autor betont außerdem, daß junge Kulturen weder nach Ziehl noch nach Much färbbar sind. Krylow[28]) untersuchte Material aus Organen von tuberkulösen Tieren und fand, daß in einigen die Zahl der T.-B. nach Much gleich denen nach Ziehl waren. Meistens jedoch ergab die Muchsche Färbung mehr gefärbte Bazillen als die Ziehlsche.

Einmal war nach Much weniger als nach Ziehl gefärbt, 24 mal war nach Much das Resultat positiv, wo Ziehl negativ, 2 mal war nach Much das Resultat negativ, wo Ziehl positiv, und einmal war nach Much das Resultat positiv, wo Ziehl negativ (Eiter) war.

Dieser zuletzt angeführte Fall, der nach Much positiv, nach Ziehl negativ war, war, wie sich später erwies, keine Tbk.

Von 16 Sputa waren nach Much und Ziehl 5 positiv, 9 negativ, 1 wies nach Much, 1 nach Ziehl mehr Bazillen auf.

Marmann[31]) untersuchte 300 Sputa und 10 Eiterproben. Die Eiterproben waren alle negativ. In allen Fällen, wo Ziehl positiv, war auch Much positiv. Außerdem waren drei Fälle nach Ziehl negativ, während Much positiv war. Davon wurden im ersten, später T.-B. nach Ziehl nachgewiesen, im zweiten keine klinischen Erscheinungen festgestellt, im dritten acht Tage später säurefeste Stäbchen nachgewiesen.

Rosenblat fand nach Much mehr Bazillen gefärbt als nach Ziehl.

Die Folgerungen bezüglich der praktischen Verwertbarkeit der Muchmethode sind sehr verschieden ausgefallen. Niemand möchte die altbewährte Ziehlfärbung missen; während aber die einen die Muchfärbung obligatorisch wissen wollen (Betheg, Schultz), räumen ihr andere (Eisenberg, Liebermeister) höchstens da ein Recht ein, wo im Material keine Begleitbakterien vorhanden und somit Verwechslungen ausgeschlossen sind, z. B. in Lymphdrüsen, Punktaten, Cerebrospinalflüssigkeit etc. Marmann empfiehlt sie warm neben der Ziehlfärbung. Bitrolf und Momose und Rosenblat halten die Ziehlfärbung für überlegen. Erwähnenswert ist noch, daß Leschke der Muchmethode das Verdienst nachrühmt, zur Entdeckung des Erregers der Hodgkinschen Krankheit verholfen zu haben.

Eigene Untersuchungen. Ich suchte gleichfalls festzustellen, ob und in welchen Fällen die Muchfärbung herangezogen zu werden verdient. Die Färbung wurde nach der S. 7 angegebenen zweiten Muchmethode vollzogen. Es wurde stets höchstens drei Tage alte Farblösung benutzt und damit die Präparate unter Erwärmung zwei Minuten lang gefärbt. Es wurden neben vielen nichtregistrierten Untersuchungen 164 Ausgangsmaterialien zur Grundlage dieser Ausführungen gemacht. Davon waren: 151 Sputa, 8 Urine, 2 Eiter, 1 Stuhl, 1 Gewebstück, 1 Blut.

Urine, Eiter und Gewebstück waren insofern interessant, als diese auch durch den Tierversuch weiter verfolgt wurden. Die Ausstriche wurden so angefertigt, daß möglichst gleichmäßige Mengen von gleichen Stellen des Materials gegen zwei Objektträger ausgestrichen wurden und man so zwei Parallelpräparate

erhielt, — eine Methode, deren nur relativer Wert zu Vergleichszwecken mir voll bewußt ist. 110 Stück der Objekte wurden von mir im Originalausstrich und gleichzeitig in der Antiforminanreicherung nach Much und nach Ziehl gefärbt, während ich bei 54 anderen auf die Untersuchung des Originalausstriches in der Muchfärbung verzichtete, da ich aus den ersten 110 Präparaten bereits ersehen hatte, daß die zahlreichen Begleitbakterien die Entscheidung sehr erschwerten, ja unmöglich machten, ob man es wirklich mit T.-B. oder anderen Bakterien zu tun hat. Die Muchmethode gestattet also keine elektive Färbung von T.-B. Aus acht weiteren Präparaten ging hervor, daß auch die Antiforminauflösung des Materials nicht davor schützt, daß zahlreiche Begleitbakterien ungelöst bestehen bleiben und so das Urteil erschweren.

Meine Versuche ergaben, daß alle Präparate, die nach Ziehl positiv waren, auch nach Much positiv waren; daß nach Much zwei Präparate mehr positiv ausfielen als nach Ziehl und zwei andere Granulaformen von zweifelhaftem Wert aufwiesen. Mit einem Präparat, das nach Much Stäbchenformen und Häufchen von Granula aufwies, wurde der Tierversuch angestellt, dieser fiel negativ aus. Bei zwei Präparaten (1 Gewebstück und 1 Urin) waren die Ausstriche nach Much und Ziehl negativ, die Tierversuche positiv.

Außerdem untersuchte ich exstirpierte Drüsen und die Organe von Meerschweinchen stets nach beiden Methoden und hatte dabei den Eindruck, mittels der Muchfärbung eher und reichlicher Tuberkelbazillen aufzufinden als mit der Ziehlfärbung. Nie aber habe ich dabei Präparate gefunden, die nach Much T.-B. enthielten, während nach Ziehl keine vorhanden waren.

Schlußfolgerung. 1. Die Muchfärbung ist keine elektive Färbung.

2. Die nach der Muchschen Methode aufgefundenen Granula dürfen bei Material, welches zahlreiche andere Bakterien enthält, weder im Originalausstrich noch in der Antiforminauflösung als beweisend für Tbk. angesehen werden; höchstens dürfte man das betreffende Material als verdächtig bezeichnen und die nochmalige Einsendung fordern.

3. Die Muchmethode soll aber stets herangezogen werden, um bei solch verdächtig gefundenen Fällen zum Weitersuchen mittels der Ziehlschen Methode anzuregen.

4. Von Wert ist die Muchsche Methode bei sonst bakterienfreiem Material, besonders bei Untersuchungen von Drüsen- und anderen Organabstrichen (z. B. von Meerschweinchen).

5. Die häufig angeführte Kompliziertheit der Methode ist nicht sehr groß und kein Hinderungsgrund für ihre Anwendung.

6. Die nach Much dargestellten Formen des T.-B. sind keine besondere Art von Tbk.-Virus, sondern identisch mit den nach Ziehl darstellbaren.

## Der Tierversuch.

Die empfindlichste Methode des T.-B.-Nachweises ist der Tierversuch. Er wird da angewandt, wo Färbe- und Anreicherungsmethoden im Stiche lassen, oder wo man im Zweifel darüber ist, ob vorhandene säurefeste Bazillen auch wirklich T.-B. sind. Der Tierversuch führt zwar langsamer als die übrigen Methoden, dafür aber mit größter Sicherheit zum Ziel.

Da es außer dem T.-B. noch andere säurefeste Stäbchen gibt, wird man je nach der Herkunft des Materials bei der Identifizierung Vorsicht walten lassen, um schwere Irrtümer zu vermeiden. Bei Exsudaten genügt die einfache Ziehl-Neelsensche Färbung, da hier andere säurefeste Stäbchen (vielleicht Actinomyces ausgenommen) nicht vorzukommen pflegen. In Sputa können andere säurefeste Stäbchen, die besonders nach dem Genusse von Butter in der Mundhöhle gefunden werden, Fehldiagnosen veranlassen. Auch säurefeste in Eiterproben sind nicht immer eindeutig. In allen solchen Zweifelsfällen sollte der Tierversuch herangezogen werden. Dagegen ist er unerläßlich bei Urinen. Denn einerseits kann dem Untersucher eine geringe Zahl der T.-B. leicht entgehen, anderseits das Vorkommen anderer unschuldiger säurefester Stäbchen in den Harnwegen sehr leicht zu der folgenschweren Fehldiagnose einer Urogenitaltuberkulose führen. Im Präputial- und Vulvasekret finden sich meistens die säurefesten Smegmabazillen, die sich zwar morphologisch anders verhalten als T.-B.,

aber dennoch infolge ihrer, wenn auch geringeren Säurefestigkeit zu Verwechslungen führen können. Man wird auch die Diagnose einer Urogenitaltuberkulose nur in jenen seltenen Fällen mit Sicherheit aus dem Originalausstrich des Urinsediments stellen können, in denen die T.-B. in den typischen sog. »Zöpfen« angeordnet vorkommen. Dold und Schern[45]) stellen den Satz auf: »Der bloß mikroskopische Nachweis von säurefesten Bazillen genügt in praxi nur bei dem Untersuchungsmaterial, bei welchem erfahrungsgemäß apathogene säurefeste Stäbchen nicht vorkommen (Sputum, Exsudat, verkäste Drüsen). In allen anderen Fällen, wenn der mikroskopische Nachweis von säurefesten Stäbchen überhaupt nicht gelingt oder wenn mit dem Vorkommen von apathogenen Säurefesten zu rechnen ist, muß der Tierversuch herangezogen werden.«

Im folgenden will ich über die Erfolge von 216 Tierimpfungen berichten, die an der Kgl. Bakt. Untersuchungsanstalt zu München angestellt wurden.

Das für den Laboratoriumsversuch geeignetste Tier ist das Meerschweinchen, da es sehr empfänglich für Tbk. ist. Es genügen oft schon vereinzelte T.-B., um es zu infizieren.

Methodik. Die Technik ist einfach und hat nur Verschiedenheiten in der Applikationsweise aufzuweisen: am einfachsten ist die folgende: Man schert die Bauchhaut des Tieres, reinigt sie mit Alkohol und legt mit steriler Schere einen kleinen Schnitt an. Dann führt man das Ausgangsmaterial mit einer sterilen Platinöse in eine Hauttasche und verklebt die kleine Wunde nachher mit Kollodium. Handelt es sich um Flüssigkeiten, so injiziert man diese mit einer Pravazspritze subkutan, oder man benutzt das Zentrifugat zur Injektion.

Auf Grund ihrer umfangreichen Untersuchungen kommen Dold und Schern[45]) zu dem Ergebnis, daß man nach 4 bis 6, im günstigsten Falle nach 3 bis 4 Wochen zum Ziele kommt.

Um schnellere Resultate zu erzielen, hat man die Applikationsweisen geändert:

Salus impfte sein Material auf Anraten von L. Rabinowitsch[43]) subkutan in die Inguinalgegend; danach soll es bereits nach 3 bis 4 Wochen zu einer merklichen Vergrößerung der Inguinaldrüsen kommen und die T.-B. in den Ausstrichen und

Schnitten der exstirpierten Drüsen nachweisbar sein. Die Drüsenexstirpation in Äthernarkose und Untersuchung auf T.-B. ohne Tötung des Tieres ist von Arthur Weber[49]) angeregt worden. Schern und Dold[45]) bezeichnen die Salussche Methode als unsicher, da einerseits die Drüsenschwellung nach drei Wochen noch gering ist und die T.-B. in den Ausstrichen nach dieser Zeit auch recht schwierig nachzuweisen sind. Ich möchte an dieser Stelle in solchen Fällen empfehlen, die Muchsche Färbemethode anzuwenden, da ich in mehreren Fällen bei Drüsenausstrichen mit ihr schneller und reichlicher T.-B. fand als mit der Ziehlschen Methode.

Ausgehend von den Arbeiten Orths und Wyssokowitschs schlug Bloch vor[7]), nach der Injektion des Untersuchungsmaterials in die Inguinalgegend (äußere Krankheitsursache) die Inguinaldrüsen zu quetschen und so eine innere Krankheitsursache zu schaffen. Bloch beschreibt sein Vorgehen der Drüsenquetschung folgendermaßen:

»Dann faßte ich die rechten Leistenfalten des Tieres zwischen Daumen und Zeigefinger und durchtastete einigemal reibend die Leistengegend, immer mit den beiden Fingern von der Tiefe zur Oberfläche gehend. Dabei kamen die Leistendrüsen als ganz kleine Knötchen zwischen den Fingern zur Wahrnehmung und wurden dabei durch festeres Zudrücken gequetscht. Denn es ist unmöglich, die winzigen und leicht ausgleitenden Leistendrüsen mit den palpierenden Fingern zu isolieren und so zu quetschen.« Bloch gibt an, nach 9 bis 11 Tagen überall, wo es sich um T.-B.-haltige Urine handelte, haselnußgroße Drüsentumoren erhalten zu haben; »immer war die Anzahl der Tuberkelbazillen in den Schnitten der gequetschten Drüsen eine ganz bedeutend größere als in den ungequetschten«.

Versuche mit Smegmabazillen hatten nach den Versuchen Webers und Möllers nach 10 bis 12 Tagen kein Resultat, jedoch konnten diese Bazillen in größerer Menge injiziert Eiterungen hervorrufen[49]). Davisdson[11]) berichtet über einen Mißerfolg mit der Blochschen Methode. »Das Urinsediment war nach der Blochschen Methode einem Meerschweinchen injiziert worden. Es stellte sich Drüsenschwellung ein und in den Drüsen konnten säurefeste Bazillen gefunden werden. Es wurde daraufhin die Diagnose Nierentuberkulose gestellt. Bei der später vorgenommenen Sektion fand sich weder in den Nieren noch in den übrigen Harnwegen eine Spur von Tbk.«

Die erste eingehende Nachuntersuchung der Blochschen Methode nahmen Joanovics und Kapsammer[25]) vor. Sie stellten sich eine Stammemulsion von T.-B. her und machten davon 6 Verdünnungen, bis zu solchen Graden, daß auf je 384 Gesichtsfelder 1 T.-B. kam. Von der Stammemulsion und den 6 Verdünnungen wurden Meerschweinchen 0,5 ccm subkutan am Oberschenkel injiziert. Nach zehn Tagen wurden die Inguinaldrüsen exstirpiert und untersucht, und selbst bei den schwächsten Verdünnungen konnten sie kleinste Herde epitheloider Zellen, deren zentral gelegene Stellen die T.-B. enthielten, nachweisen. Die Autoren meinen daher, daß die Blochsche Methode uns in den Stand setze, schon innerhalb 14 Tagen in zweifelhaften Fällen von T.-B. die sichere Entscheidung durch den Tierversuch zu treffen.

Dieterlen, der ebenfalls die Blochsche Methode nachprüfte, will dennoch bis zum Übergang der Tbk. auf die inneren Organe warten (ca. 6 Wochen), da die, einige Tage nach subkutaner Injektion von tbk.-verdächtigem Material auftretende Schwellung der gequetschten Drüsen für Tbk. nicht spezifisch ist. Lassen sich in den exstirpierten Drüsen Säurefeste nachweisen, so wächst damit die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um Tbk. handelt. Mit Sicherheit kann man aber erst die Diagnose stellen, wenn auch die inneren Organe erkrankt sind. Dold[45]) betont die Nichtspezifität der Drüsenschwellung nach der Quetschung, da sie eine Reaktion auf das Trauma darstelle. Er schlägt vor, das Material beiderseits zu injizieren, nach 10 Tagen die Drüsen der einen und nach 2 bis 3 Wochen die Drüsen der anderen Seite zu exstirpieren. Fligg[19]) fand, daß auch die intramuskuläre Impfung bereits nach 9 bis 11 Tagen Resultate ergeben.

Seit Bestehen der Kgl. Bakt. Untersuchungsanstalt zu München bis zum 1. September 1913 wurden 216 Tierversuche angestellt, deren Verlauf ich im folgenden beschreiben werde.

Auf den Antrag des Einsenders hätte stets ein Tierversuch genügt; aus Zweckmäßigkeitsgründen (Tierverluste etc.) wurden häufig zwei, bisweilen auch mehrere Tiere infiziert, und zwar wurden, wenn das Material fremde

**Tabelle II.**

| Ausgangsmaterial | Zahl der Einsendungen (davon positiv) | Zahl der damit angestellten Tierversuche (positiv) | Tierversuche mit Antiformin (positiv) | Tierversuche ohne Antiformin (positiv) |
|---|---|---|---|---|
| Urin | 85 (15) | 152 (19) | 82 (3) | 70 (16) |
| Eiter | 8 (3) | 12 (3) | 6 (3) | 6 (0) |
| Sputum | 6 (1) | 10 (1) (2?) | 7 (1?) | 3 (1) (1?) |
| Kniegelenkspunktat | 6 (1) | 10 (1) | 8 (1) | 2 (0) |
| Liquor cerebrospin. | 4 (2) | 6 (3) | 2 (0) | 4 (3) |
| Exsudate | 11 (2) | 20 (2) | 3 (0) | 17 (2) |
| Stuhl | 1 (0) | 1 (0) | 1 (0) | 0 |
| Blut | 3 (0) | 3 (0) | 3 (0) | 0 |
| Gewebsstück | 1 (1) | 1 (1) | 1 (1) | 0 |
| Sekret | 1 (0) | 1 (0) | 0 | 1 (0) |
| Summa: | 126 (25) | 216 (30) (2?) | 113 (8) (1?) | 103 (22) (1?) |

Bakterien enthielt, diese vorher mit Antiformin abgetötet, da ja das Antiformin die T.-B. angeblich nicht schädigt. Die Tiere wurden im Tierstalle in irdenen Töpfen getrennt aufbewahrt. Jeder Topf hat ein Schild, auf welchem Namen des Pat., Journalnummer und Tiernummer und Einsender verzeichnet ist, neben einer Beschreibung des Tieres. Jedes Tier erhält außerdem, um Verwechslungen vorzubeugen, eine Ohrmarke. Über jedes Tier wird in eigens dazu angelegten Tierbüchern genau Protokoll geführt. Es wird mindestens einmal wöchentlich gewogen und eingehend auf Drüsenschwellung, Darmkatarrh etc. untersucht. Der Tierstall bedarf großer Pflege, wobei Reinlichkeit, strenge Isolierung der infizierten Tiere voneinander sowie von den gesunden Tieren und Regulierung der Temperatur und Nahrung eine große Rolle spielen. Bei unseren Versuchen wurden die Tiere subkutan in der Regio inguinalis meistens mit Drüsenquetschung geimpft.

Mit 126 verschiedenen Einsendungen wurden demnach 216 Tierversuche angestellt; 113 mit Antiforminvorbehandlung des Materials, 103 ohne dieselbe. Es wurden im ganzen 25 positive Resultate mit 30 positiven einzelnen Tierversuchen erzielt, von denen 8 auf das mit Antiformin vorbehandelte Material entfielen, 22 auf das nicht mit Antiformin vorbehandelte. Also bei 113 mit Antiformin gespritzten Tieren nur acht positive, bei 103 ohne Antiformin 22 positive Resultate. Es scheint somit doch eine erhebliche Schädigung der T.-B. durch das Antiformin einzutreten. Dieser Schluß kann aber nicht mit absoluter Sicherheit gemacht werden, da man mir den Einwand machen kann: Viel-

leicht war eben das Ausgangsmaterial unter den oben angeführten, ohne Antiformin vorbehandelten 103 Fällen häufiger T.-B.-haltig als in den 113 anderen Fällen. Von den 126 gespritzten Tieren wurden 32 tuberkulös, und ich habe sie im folgenden geordnet nach der Zahl der Tage, in denen die ersten Anzeichen von Tbk. äußerlich an ihnen bemerkbar wurden.

**Tabelle III.**

| Die ersten Anzeichen von Tbk. traten auf | Die Diagnose konnte gestellt werden | Material war vorbehandelt |
|---|---|---|
| nach 11 Tagen | nach 25 Tagen | ohne Antiformin |
| » 12 » | » 65 » | do. |
| » 13 » | » 21 » | do. |
| » 14 » | » (160) » | do. |
| » 16 » | » 22 » | mit Antiformin |
| » 16 » | » (47) » | do. |
| » 16 » | » (55) » | do. |
| » 16 » | » 16 » | do. |
| » 18 » | » 68 » | do. |
| » 19 » | » 50 » | do. |
| » 19 » | » (65) » | do. |
| » 19 » | » 59 » | do. |
| » 19 » | » 32 » | do. |
| » 20 » | » 38 » | do. |
| » 20 » | » 40? » | do. |
| » 21 » | » 27 » | do. |
| » 21 » | » 28 » | do. |
| » 21 » | » 86 » | do. |
| » 22 » | » 33 » | do. |
| » 24 » | » 46 » | do. |
| » 26 » | » 77 » | do. |
| » 26 » | » 30 » | do. |
| » 27 » | » 21 » | do. |
| » 31 » | » 82 » | do. |
| » 32 » | » 60 » | do. |
| » 35 » | » 66 (160) Tg. | do. |
| » 37 » | » 90 Tagen | do. |
| » 37 » | » (129) » | do. |
| » 40 » | » (160) » | do. |
| » 41 » | » 70 » | do. |
| » 45 » | » 62 » | do. |
| » 56 » | » (93) » | do. |

Betrachten wir die Inkubationszeit der einzelnen Tiere, die ich in Tabelle III der Zeit nach angeordnet habe, in der sie die ersten Tbk.-Zeichen aufwiesen, so finden wir, daß die Tiere, die mit Antiformin gespritzt wurden, größtenteils in der zweiten Hälfte der Tabelle zu finden sind. Die Inkubationszeit betrug im Durchschnitt überhaupt 25 Tage; bei den Tieren, die mit ursprünglichem Material infiziert wurden, betrug sie 23 im Durchschnitt, bei den mit Antiformin gespritzten Tieren aber 30 Tage. Dies spricht meiner Ansicht nach doch für eine Schädigung der T.-B. durch das Antiformin, und ich möchte daraus die Folgerung ziehen, daß Antiformin nur dann dem Material beizumischen sei, wenn wegen Anwesenheit zahlreicher fremder Mikroorganismen eine Sepsis oder Phlegmonie befürchtet werden muß. Aus den Protokollen der Tierversuche konnte ich auch feststellen, daß auch von den tuberkulösen Tieren keines einen plötzlichen Gewichtsverlust aufweist, eine Anschauung entgegen der Meinung in jedem Lehrbuch, als ob dieses ein unausbleibliches Symptom der Infektion sei.

Wenn die Tbk. einen Gewichtsverlust bewirkt, geschieht dies in einem Stadium, wo die Diagnose bereits längst entschieden ist; das Wägen der Tiere hat also keinen diagnostischen Zweck. Es kann aber trotzdem empfohlen werden, da damit Veranlassung zu einer gleichzeitigen eingehenderen Untersuchung des Tieres gegeben ist.

Aus Tabelle III geht ebenfalls hervor, nach wieviel Tagen eine Diagnose bei den positiven Fällen abgegeben werden konnte. Es war dies im frühesten Falle nach 16, im spätesten nach 90 Tagen. Die in der Tabelle eingeklammerten Zahlen kommen für die Diagnose nicht in Betracht, da es sich hier um Paralleltiere handelt, bei denen die Diagnose bereits vorher durch ein anderes Tier gestellt war. Im Durchschnitt konnte die Diagnose nach 74 Tagen abgegeben werden.

Eine sehr beachtenswerte Tatsache sind die Tierverluste. Sie beliefen sich bei unseren 216 Versuchstieren auf 72. Dies sind 33⅓%; also ein Drittel aller geimpften Tiere gingen nutzlos zugrunde. Diese Zahl ist, wie jeder zugeben wird, sehr groß.

Ob sie an anderen Anstalten größer oder kleiner ist, weiß ich nicht. Daß sie bei der überaus sorgsamen Pflege, die die Tiere bei uns genießen, dennoch eine solche Höhe erreichte, hängt mit der großen Empfindlichkeit der Meerschweinchen zusammen. Oft bedingen rein zufällige Ereignisse eine große Mortalität. So starben unter den Tieren während eines durch Erkrankung des Stalldieners bedingten Personalwechsels innerhalb 6 Tagen 16 Tiere an interkurrenten Krankheiten. Hauptsächlich aber dürften die baulichen Verhältnisse des Tierstalles, die bei der Münchener Anstalt keine sonderlich günstigen sind, den größten Einfluß auf die Mortalität haben. Abgesehen von dem ökonomischen Schaden, den die Tierverluste bedingen, verzögern sich die Resultate oft um mehrere Wochen, da häufig Neueinsendungen des Materials erforderlich wird.

### Der beschleunigte Tierversuch.

Die lange Dauer des Tierversuchs hat mehrere Untersucher bewogen, das Tierexperiment abzukürzen. Damsch schlug die Impfung in die vordere Augenkammer vor; danach sollen nach drei Wochen in der Iris deutliche Tuberkel auftreten. Aber abgesehen davon, daß diese Methode sehr große technische Fertigkeiten erfordert, soll es sehr häufig bei Vorhandensein einer Mischinfektion zu einer Panophthalmie kommen, welche das Resultat zunichte macht.

Der beschleunigte Tierversuch nach Oppenheimer. Oppenheimer[36]) gab im Oktober 1911 eine neue Methode des »beschleunigten Tierversuchs« an, der die oben angeführten Nachteile nicht anhängen. Er schreibt:

»In dem Bestreben, eine Methode zu finden, welche auf sichere und einfache Weise den Tbk.-Nachweis ermögliche, ging ich von dem Gedanken aus, die Impfung in ein Organ zu verlegen, das dank seiner anatomischen Beschaffenheit die Tuberkelknötchen in frühen Stadien erkennen lasse und zudem der Weiterentwicklung der T.-B. gute Chancen böte. Beide Bedingungen schien die Leber zu erfüllen. Denn in dem glatten braunen Felde der Leber heben sich nicht nur, wie wir uns gelegentlich früherer Untersuchungen überzeugen konnten, die gelblich verfärbten T.-B. frühzeitig und deutlich ab, sondern die Erfahrung lehrt auch, daß nach Einbringung von T.-B. in die Blutbahn gerade die blutreichen Organe Leber und Milz zuerst erkrankten.«

»Die Technik der intrahepatischen Impfung ist eine sehr einfache. Da nämlich beim Meerschweinchen die Leber sehr groß ist und nicht

wie beim Menschen im rechten Hypochondrium liegt, sondern sich symmetrisch über den Bauchraum erstreckt, so überragt sie namentlich unterhalb des Sternums den Brustkorb und ist daher an dieser Stelle leicht erreichbar. Wir stechen, ohne zunächst die Spritze aufzusetzen, dicht unterhalb des Brustbeins einmal in der Richtung nach links oben, ein zweites Mal nahe derselben Stelle nach rechts oben, 1¼ cm tief ein. Ein tieferes Einstechen ist zu widerraten, da sonst die Leber leicht durchbohrt wird. Die Kanüle liegt im Lebergewebe, wenn sie die Atembewegung des Tieres rhythmisch mitmacht. Den dritten Einstich führen wir mit aufgesetzter Spritze aus, indem wir in der rechten Mammillarlinie dicht unterhalb des Rippenbogens eingehen und die Nadel ca. 2 cm fast senkrecht gegen das Zwerchfell nach oben schieben.«

Oppenheimer injizierte das Sediment von vier Zentrifugenröhrchen, welches mit 6 ccm Harn der betreffenden Versuchsperson aufgeschüttelt wurde und zwar an jeder Einstichstelle 1 ccm. Bereits nach 16 Tagen, bei Vorhandensein sehr virulenter Bazillen sogar bis herab bis zu 5 Tagen, ließ sich eine Miliartuberkulose der Leber und Milz nachweisen. Auf der Oberfläche und im Durchschnitt der Leber zeigte sich eine Aussaat kleiner gelbweißer Stellen, die Punkt- oder strichförmig waren, vielfach war auch das Ligamentum suspensorium hepatis von Knötchen durchsetzt. In allen Fällen war die Milz beträchtlich vergrößert und zeigte sowohl an der Oberfläche wie auch im Durchschnitt Knötchen. Überhaupt war die Erkrankung der Milz ausgesprochener und trat, wie sich aus der Sektion vorzeitig getöteter Tiere ergab, früher in Erscheinung als die der Leber. Mikroskopisch zeigten die Knötchen eine umschriebene Anhäufung von epitheloiden Zellen mit geringer Rundzellenanhäufung. Die Knötchen zeigten auch nach längerer Zeit nur geringe Tendenz zur Riesenzellenbildung und Verkäsung. In den Milztuberkeln war die Riesenzellenbildung deutlicher ausgesprochen. T.-B. konnten auf dem Schnitt nur in der Hälfte der Fälle nachgewiesen werden. Das Material der Tiere, deren Leber die geschilderten Verhältnisse aufwies (ohne daß der T.-B.-Nachweis gelang?), wurden auf sechs weitere Tiere verimpft, von denen zwei vorzeitig zugrunde gingen und vier tuberkulös wurden. Sechs intrahepatisch geimpfte Tiere wurden am Leben gelassen; davon gingen drei nach 4½ Wochen an Tbk. zugrunde, die drei anderen wiesen bei der Tötung nach 3 bis 4 Wochen eine disseminierte Tbk. aller Organe auf.

Somit war der Beweis erbracht, daß die intrahepatische Impfung beim Meerschweinchen Tbk. hervorrufen kann.

Daß andere Infektionserreger nicht die gleichen Erscheinungen hervorrufen wie der T.-B., geht aus folgenden Versuchen hervor: Ein Harn, der den Staphylococcus albus enthielt, wurde ebenfalls intrahepatisch auf ein Tier verimpft, und bereits nach 5 Tagen ging es zugrunde. Die Sektion ergab einen ca. kirschkerngroßen Abszeß in der Leber, der keine T.-B. enthielt. Andere Harne, die keine T. B. enthielten, vermochten keine der oben als Tbk. charakteristisch bezeichneten Leber- und Milzveränderungen hervorrufen.

Im ganzen wurden 17 Tiere mit T.-B.-haltigen Urinen geimpft; sämtliche Tiere wiesen nach 16 Tagen die geschilderten Veränderungen auf. Bei

23 Tieren wurde nicht tuberkulöses Material verwandt und keines der Tiere zeigte ähnliche Erscheinungen. Daraus schließt Oppenheimer: »Die intrahepatische Impfung scheint ein empfindliches Reagens auf Tbk. zu sein.«

Nachprüfungen der Methode wurden bereits von Esch[16]) vorgenommen.

Eigene Untersuchungen. Meine Versuchsreihen mußten sich leider äußerer Umstände halber auf ein nur geringes Material beschränken. Zunächst suchte ich festzustellen, wie das injizierte Material sich in der Leber verteilte. Die ersten Impfversuche fanden mit einer Methylenblaulösung und mit Tuscheaufschwemmung statt. Zuerst gingen mir mehrere Impfungen fehl, indem sich bei der Sektion herausstellte, daß das Material entweder in die Lungen oder in den Magen sich ergossen hatte. Jedoch bald gelang die Einführung der Nadel in die Leber. Bei der Sektion konnte man sehen, daß das ganze Organ mit der Farbe vollkommen injiziert war, und daß wenige Minuten nach der Injektion der Farbstoff bereits in den intestinalen Lymphdrüsen nachweisbar war. Einen Transport bis in die Milz hatte ich in keinem Falle abgewartet.

1. Versuchsreihe. Ich infizierte alsdann 3 Tiere mit einer T.-B.-Aufschwemmung einer 5½ Wochen alten Glyzerinascitesagarkultur. Die Aufschwemmung wurde folgendermaßen hergestellt: In 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurde eine Öse Kultur verrieben, gut durchgeschüttelt, dann einige Stunden sedimentiert. Im Durchschnitt fand sich in einem Gesichtsfeld des von der Aufschwemmung hergestellten Ausstrichpräparates ein T.-B., also die Konzentration, die einem reichlich T.-B.-haltigen Urin entspricht. Jedem der 3 Tiere injizierte ich 1 ccm dieser Flüssigkeit nach der Oppenheimerschen Methode.

Die Impfung fand am 7. Dezember 1912 statt.

Tier 1. Im Laufe der Beobachtung keine Gewichtsabnahme, keine Drüsenschwellung. Das Tier wurde am 20. XII. 12 (13 Tage post infectionem) getötet. Die Sektion ergab: Leber stark vergrößert und hyperämisch, mit einzelnen gelblichen Punkten, Milz etwas vergrößert, Mesenterialdrüsen stark vergrößert. Im Zwerchfell kleine Tuberkel, Lunge o. B.

Mikroskopisch: Im Originalausstrich folgender Organe befanden sich T.-B.: Milz (am meisten), Leber, Zwerchfell. Außerdem in der Antiformin-anreicherung der Drüsen.

Tier 2. Wurde am 30. XII. 12 getötet, d. i. 3 Wochen post infectionem. Auch hier war in der Beobachtungszeit keine Gewichtsabnahme und nur eine geringe Schwellung der Inguinaldrüsen zu bemerken. Sektion ergab: Kleine Inguinaldrüsen, Leber sehr stark vergrößert und hyperämisch, Milz mit

Tuberkulin übersät und stark vergrößert, Lunge zahlreiche glasige Tuberkel, Zwerchfell mit Knötchen dicht übersät, mediastinale und mesenteriale Drüsen verkäst. Einstichstelle vereitert, Eiter enthält T.-B. In sämtlichen angeführten Organen zeigten sich im mikroskopischen Bild sehr reichlich T.-B.

Tier 3. Wurde am 7. I. 13 getötet; also 4 Wochen nach der Infektion. Es zeigte denselben Sektionsbefund wie Tier 2.

Die Impfung selbst vertrugen die Tiere gut; eines erlitt einen schweren Shok, von dem es sich aber bald erholte.

Durch diese Versuche ist der Beweis erbracht, daß diese Methode gangbar ist, und daß mit einem allerdings günstigen Material bereits nach 13 Tagen Tbk. nachweisbar war, während nach unserer Tabelle III die kürzeste Zeit, nach welcher ein positiver Befund erhoben werden konnte, 16 Tage (im Durchschnitt 74 Tage) betrug.

2. Versuchsreihe. Zu einer zweiten Versuchsreihe verwandte ich Urine, in welchen mikroskopisch T.-B. festgestellt worden waren.

Tier 1 (Es handelte sich um Zopfformen von T.-B.) ging nach 3 Tagen an Stallseuche zugrunde. Sektion o. B. Das subkutan infizierte Paralleltier ging nach 5 Tagen an Stallseuche zugrunde. Sektion o. B.

Tier 2 wurde mit nochmals eingesandtem Material desselben Falles wie Tier 1 infiziert. Das Tier ging am 7. Tage zugrunde. Ein subkutan infiziertes Paralleltier starb ebenfalls nach 7 Tagen. Beide Sektionen o. B.

Tier 3 starb 1 Tag nach der Infektion. Das Paralleltier wies bei der Sektion nach 37 Tagen keinen tuberkulösen Befund auf.

Tier 4 (Material tbk.-haltiger Urin) wurde 21 Tage post infect. seziert und wies vergrößerte Milz und Leber auf, beide mit Knötchen übersät; in allen Organen waren T.-B. nachweisbar. Die Axillardrüsen waren vereitert und enthielten ebenfalls T.-B. Das Paralleltier zeigte die ersten Anzeichen der Tbk. bereits nach 13 Tagen.

Diese wenigen Versuche ergeben: Die Oppenheimersche intrahepatische Impfung führte bei günstigem Material innerhalb 13 bis 21 Tagen zu einem positiven Resultat. Ein sehr günstiges Ergebnis gegenüber unserem Durchschnittszeitraum von 74 Tagen. Endgültige Schlußfolgerungen kann man bei diesem geringen Material selbstredend nicht daraus ableiten. Die große Mortalität dürfte nicht auf die Methode zu schieben sein, da ja auch bei der gewöhnlichen Impfung 33⅓% der Tiere zugrunde gingen. Ein Nachteil der Methode ist, daß das Tier nach verhältnismäßig kurzer Zeit getötet werden muß, ohne Rücksicht darauf, ob äußere Anzeichen von Tbk.-Erkrankung vorhanden sind oder nicht, so daß es im Falle eines negativen Ausfalles ungewiß bleibt, ob das Resultat richtig ist. Die Inkubationszeit betrug bei uns im Durch-

schnitt bei subkutaner Injektion 25 Tage; im längsten Falle dauerte sie 56 Tage. Oppenheimer will bereits nach 16 Tagen durch Tötung des Tieres zur Diagnose gelangen. Mag die Inkubationszeit bei der intrahepatischen Impfung auch kürzer sein als bei der subkutanen, so wird man sich bei den großen Schwankungen doch schwerlich entschließen können, selbst wenn das Tier erst nach 30 Tagen getötet wird, bei negativem Befund eine Tbk. für ausgeschlossen zu erklären. Will man also die Diagnose wirklich in dem Sinne Oppenheimers beschleunigen, so ist man gezwungen, eine Reihe von Tieren mit dem Ausgangsmaterial zu impfen und nach gewissen Zeitabständen zu töten. Vor dem Ablauf von ca. zwei Monaten aber wird man mit der Abgabe einer Diagnose im negativen Sinn zurückhalten müssen. Wir kommen also zu dem Schlusse: Mit der Oppenheimerschen intrahepatischen Impfung kann man bei entsprechenden Opfern von Tieren schneller zu einer **positiven** Diagnose gelangen als mit der subkutanen Methode. Ob dieses aus materiellen Gründen für die Untersuchungsämter durchführbar ist, wage ich nicht zu entscheiden.

Die intrakutane Tuberkulinreaktion nach Esch. Etwa 1 Jahr später als Oppenheimer gab Esch in der M. Med. Wochenschr. 1912, Nr. 39, eine Methode an, die das gleiche Ziel wie das von Oppenheimer angegebene Verfahren verfolgt unter dem Titel: »Die Anwendung der intrakutanen Tuberkulinreaktion als Hilfsmittel zum beschleunigten Nachweise durch den Tierversuch.« Nach Eschs Meinung ist die auf subkutane Infektion hin auftretende Drüsenschwellung nicht spezifisch für Tbk., und eine Erweichung der Drüsen mit dem Befund von Säurefesten könne auf Transport von ev. miteingebrachten saprophytischen Säurefesten beruhen. Er empfiehlt deshalb seine Methode, »mit deren Hilfe es gelingt, einwandfrei und zugleich rasch eine Infektion beim Meerschweinchen festzustellen.« Seine Versuche fußen auf den von Römer[38]) und den von Römer und Joseph[39]) gemeinsam ausgeführten Untersuchungen über die Inkubationszeit der experimentellen Tbk. beim Meerschweinchen.

Zur Klärung dieser Frage bedienten sich die beiden Autoren erfolgreich der Empfindlichkeit der tuberkulös gemachten Meerschweinchen gegenüber Tuberkulin. Sie zeigten, daß die intrakutane Injektion von Tuberkulin beim tuberkulösen Meerschweinchen eine außerordentlich charakteristische und spezifische lokale Reaktion im Gefolge hatte. Römer und Joseph haben an 300 Meerschweinchen die intrakutane Tuberkulinreaktion mit 0,02 ccm staatlich geprüftem Tuberkulin (Behring-Werk) in einer weiter unten angegebenen Methode geprüft und geben an, daß eine lokale Reaktion nur ausbleibt bei gesunden, d. h. noch nicht künstlich mit Tbk. infizierten und auch nicht spontan tuberkulös erkrankten Meerschweinchen.

»Nur in ganz vereinzelten Ausnahmefällen bleibt eine Lokalreaktion auch bei tuberkulösen Tieren aus, nämlich dann, wenn es sich um in den letzten Stadien des Prozesses, wenige Tage vor dem Tode stehende Tiere oder um Meerschweine handelt, die an anderweitigen schweren Infektionen erkrankt sind. Eine positive Reaktion weist dagegen mit absoluter Sicherheit auf eine stattgehabte Infektion mit lebenden Tuberkelbazillen hin. Wir haben eine positive Reaktion noch niemals bei nicht tuberkulös infizierten Tieren beobachtet, auch dann nicht, wenn dieselben wiederholt mit Tuberkulin, speziell intrakutan injiziertem Tuberkulin behandelt waren. Es hat daher die intrakutane Reaktion bei Meerschweinen einen streng spezifischen Charakter und ist daher von hoher diagnostischer Bedeutung.«

Nach Römer und Joseph entspricht der stärkste und frühzeitigste Eintritt der Reaktion der stärksten Dosis Tuberkulin, die man injiziert hat. Die Intensität der Reaktion nimmt zu mit der Entwicklung des Tbk.-Prozesses im Organismus. Sie wollten mit ihren Versuchen nur jenes Inkubationsstadium feststellen, welches vergeht vom Moment der Infektion bis zum Auftreten der Tuberkulinüberempfindlichkeit, gemessen mit der intrakutanen Reaktion. Sie spritzten daher eine Tiergruppe mit fallenden Dosen von Tuberkulin in die Cutis und fanden bei einer Menge von $^1/_{10000}$ ccm Tuberkulin eine Inkubationszeit von 23 Tagen, bei Dosen von $^1/_{10\,000\,000}$ bis $^1/_{100\,000\,000}$ ccm eine Inkubationsfrist von einem Monat und kamen zu dem Schlusse: »Es kann das Inkubationsstadium im biologischen Sinne beim Meerschwein unter geeigneten Bedingungen selbst drei Monate dauern.« (Bei einem ihrer Tiere dauerte es sogar 3½ Monate.)

Hinsichtlich der Technik der intrakutanen Injektion und der Beurteilung der Reaktion zitiert Esch die Vorschriften Römers in folgendem Auszuge, den auch ich hier folgen lasse:

»Zur Injektion werden beim Meerschweinchen die seitlichen Brust- und Bauchpartien benutzt, und zwar am zweckmäßigsten eine weiße Hautstelle. Vor Vornahme der Injektion wird zunächst eine chemische Depilierung in der Weise vorgenommen, daß die Tiere an der gewünschten Stelle mit einer gebogenen Schere kurz geschoren werden, und daß dann Kalziumhydrosulfidbrei in mäßig dicker Schicht aufgetragen wird. Nach 2 bis 3 Minuten wird mit Wasser das Kalziumhydrosulfid abgewaschen, wobei gleichzeitig eine vollständige Enthaarung der bestrichenen Körperteile eintritt. In der Mitte der enthaarten Fläche wird in eine zwischen dem linken Daumen und Zeigefinger erhobenen Hautfalte mit Hilfe einer mit einer sehr feinen Kanüle armierten Pravazspritze genau 0,1 ccm Gesamtflüssigkeit in der 0,02 ccm Tuberkulin enthalten sind, injiziert (d. h. 0,1 ccm einer Verdünnung von Tuberkulin in physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 5). Die Injektion wird möglichst dicht unter die Oberhaut ausgeführt, so daß eine erbsengroße Beule entsteht, die weder durch Streichen noch durch Massieren verteilt werden darf. Die Kontrolle des Impferfolges wird nach 24 und 48 Stunden vorgenommen. Tuberkulosefreie Meerschweinchen zeigen in einzelnen Fällen nach 24 Stunden eine geringe Rötung und Schwellung — eine leichte traumatische Reizung —, die aber nach 48 Stunden vollkommen verschwunden ist. Diese Reizung läßt sich in der Regel, wie wir gleich sehen werden, von der bei tuberkulösen Tieren zu dieser Zeit auftretenden Reaktion leicht unterscheiden.

Bei hochgradig tuberkulösen Tieren beobachtet man schon nach 18 bis 24 Stunden eine bis zu zweimarkstückgroße Schwellung (Quaddelbildung), über der die Haut meist stark verfärbt ist. Diese Verfärbung zeigt sich in Form einer kleinen zentralen Rötung, umgeben von einer porzellanweißen, ringförmigen Zone, die ihrerseits wiederum von einer Rötung umgeben ist. Die zentrale Rötung kann in anderen Fällen noch intensiver sein und in einem bis markstückgroßen Blutextravasat bestehen. Nach 48 Stunden macht sich dann eine grünliche Verfärbung des Blutextravasats geltend. Diese intensive Rötung wird in den folgenden Kontrollen mit † † † gekennzeichnet.

Weiter findet sich eine charakteristische Reaktion, die ebenfalls mit der erwähnten traumatischen Reizung keine Ähnlichkeit hat; sie erscheint in der Regel aber erst nach 36 bis 48 Stunden. Sie besteht gleichfalls in einer Quaddelbildung, bei der aber die durch den zentralen Bluterguß bedingte Verfärbung fehlt. Sie wird mit † † bezeichnet.

Als dritte und leichteste Form wird eine noch nach 24 Stunden (im Gegensatz zu der traumatischen) bestehende Reaktion beobachtet. Sie ist charakteristisch durch eine Schwellung zirkumskripter Art mit deutlicher Rötung, aber ohne die typische Quaddelbildung. Sie unterscheidet sich also von der flüchtigen, rein traumatischen Reizung an erster Stelle durch die lange Dauer der Reaktion. Sie wird mit † gekennzeichnet. Sie tritt nach den

Ergebnissen von Römer und meinen eigenen Erfahrungen im Beginne des Tbk.-Prozesses auf, wenn bisweilen das Vorhandensein einer anatomischen Tbk. makroskopisch noch nicht erkennbar ist.

Zusammenfassend unterscheiden wir also 3 Reaktionen, und es bedeutet in unseren Protokollen:

† † † = Quaddelbildung mit zentralem Blutextravasat;
† † = Quaddelbildung ohne zentrales Blutextravasat;
† = Schwellung und Rötung mit nachfolgender Knötchenbildung.«

Römer und Joseph hatten die intrakutane Tuberkulinreaktion lediglich angestellt, um die Frage der Inkubationszeit der Tbk. beim Meerschwein zu beantworten, und begannen mit der intrakutanen Prüfung erst am 21. Tage. Esch dagegen bezweckte eine Beschleunigung des Tierversuches. Er begann daher die intrakutane Prüfung bereits am 6. Tage nach der Infektion.

Im ersten Teile seiner Abhandlung vom 24. September 1912 verglich[16]) er die Wirkung der 0,02 ccm des intrakutan einverleibten Tuberkulins mit derjenigen von 0,5 ccm subkutan verabreichten Tuberkulins und kommt zu dem Ergebnis, daß die diagnostische Verwertbarkeit der subkutanen Impfung sehr gering ist, insofern als man aus dem Verhalten der Körpertemperatur der Meerschweine nach Tuberkulingabe keinen Schluß auf das Vorhandensein oder den Grad der Tbk. ziehen kann. Er gibt folgende Vorschriften bei der Anwendung seiner Methode:

»Das Untersuchungsmaterial wird in der bisher üblichen Weise vor der Injektion behandelt. Vorsichtshalber (Tierverluste) werden 2 Meerschweine infiziert, und zwar eines mit einer größeren Menge als das andere. Vor oder wenigstens gleichzeitig mit der Injektion des Untersuchungsmaterials werden die Tiere der intrakutanen Tuberkulinimpfung unterzogen, um eine spontane Tbk. auszuschließen oder mindestens vorzeitig zu erkennen. Am 6. Tage und 3 Tage später wird das Tier, welches die größte Menge des Untersuchungsmaterials bekam, intrakutan auf Tuberkulinüberempfindlichkeit geprüft, weil die begründete Aussicht vorhanden ist, daß diese Tiere eher positiv reagieren. Vom 9. Tage nach der Infektion ab wird bei beiden Tieren abwechselnd in Intervallen von 3 Tagen das Tuberkulin intrakutan injiziert. Ist die Reaktion positiv ausgefallen, so wird das betreffende Meerschweinchen getötet, damit die biologische durch die anatomische Diagnose erhärtet wird. Ist die Reaktion bis Ende der 6. Woche negativ ausgefallen, so wird ebenfalls ein Tier getötet, damit auch anatomisch eine Tbk. ausgeschlossen wird. Ist der anatomische Befund nicht absolut eindeutig, so wird das zweite Tier erst nach der 8. Woche getötet.«

Ein durch die wiederholte Tuberkulinimpfung bedingtes Eintreten einer Immunität der Tiere ist nach den experimentellen Beweisen Römers und Josephs[39]), sowie Eschs[16]) nicht zu befürchten.

Auf die Kontroverse, die sich zwischen Oppenheimer und Esch im Anschluß an die Veröffentlichungen der von den Verfassern angegebenen Methoden entspann, hinsichtlich des Vorranges der jeder ihrer Methoden für die Beschleunigung des Tierversuches gebühre, will ich hinweggehen, insofern als mich nur die Anwendbarkeit der Methoden an sich neben den übrigen interessiert. Jedoch muß ich einen wichtigen Satz aus Eschs Erwiderung vom 28. Januar 1913[17]) zitieren, da er für die Praxis wichtig ist. »Niemals blieb die intrakutane Reaktion aus, wenn anatomisch eine Tbk. nachweisbar war.« (NB. mit Ausnahme der bereits von Römer angeführten Tiere, die kurz ante exitum standen.)

Aus der Erwägung heraus, daß man also mittels der intrakutanen Prüfung der Tiere den Zeitpunkt der Tötung ev. einer Drüsenexstirpation fixieren kann, muß man diese Methode als Hilfsmittel bei dem gewöhnlichen Vorgehen begrüßen. Niemand dürfte sich aber finden, der auf einen positiven Ausfall der Reaktion ohne positiven anatomischen und bakteriologischen Befund sich für die Diagnose einer Tbk. wird entschließen können. Esch selbst fordert die Erhärtung der Diagnose durch die Tötung des Tieres.

Meine eigenen mit der intrakutanen Methode angestellten Versuche verfolgten nicht ganz denselben Zweck, der Esch vorschwebte, sondern ich wollte lediglich den Verlauf der Impfung zunächst bei sicher tuberkulösen Tieren, bei nicht tuberkulösen Tieren und bei zweifelhaften Tieren untersuchen, um dann die Verwertbarkeit der Methode als Hilfsmittel bei den bakteriologischen Untersuchungsanstalten zu beleuchten.

Im großen ganzen hielt ich mich bei meiner Versuchsanordnung an die Vorschriften Römers und Eschs. Nur der Ort der Applikation änderte ich, indem ich als Injektionsstelle nicht die Bauchhaut, sondern den hinteren Teil des Rückens wählte, und zwar aus dem Gesichtspunkte heraus, daß an dieser Stelle weniger eine Sekundärinfektion der Impfstelle zu befürchten war als am Bauche,

der bei den Tieren oft durch Kot und Urin etc. verschmiert wird. Nach der intrakutanen Impfung salbte ich die Tiere an der enthaarten Stelle mit einer indifferenten Fettsalbe ein, um die nachträglichen Reizwirkungen des Kalziumhydrosulfidbreis möglichst auszuschalten. Ich stellte zwei Versuchsreihen an:

1. Versuchsreihe.

In der 1. Versuchsreihe wurden intrakutan geimpft:

a) 6 sicher tuberkulöse Tiere,

b) 2 gesunde Tiere (Kontrolle), und der Verlauf der Impfung 6 Tage lang kontrolliert; am Schluß folgte die Sektion.

1. Tier. (Sicher tuberkulös.) Das Tier war am 22. X. 12. mit der Milz eines Meerschweinchens, das mit verdächtigen Erscheinungen erkrankt war, ohne daß Tbk. nachgewiesen werden konnte, geimpft worden. Jenes Tier, von welchem die Milz stammte, war mit Sputum infiziert worden, welches verdächtige säurefeste Stäbchen enthielt.

Am 27. XII. 12 ergab eine Drüsenexstirpation Tuberkelbazillen in der Drüse.

Am 15. I. fand die intrakutane Tuberkulininjektion mit dem folgenden Verlauf statt; 85 Tage nach der Injektion.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Zweimarkstückgroßer entzündlicher roter Hof, Einstichstelle sichtbar, lokale Temperatur erhöht.
2. Tag: Leichte Infiltration von Quaddelbildung, Druckschmerz.
3. Tag: Leichte Infiltration von Quaddelbildung, Druckschmerz.
5. Tag: Starke Infiltration mit Nekrose, Druckschmerz.
6. Tag: Starke Infiltration mit Nekrose, Druckschmerz.

Resultat der Impfung: † † †.

Am 23. I. 13 Sektion: Befund: Beiderseits bohnengroße, nicht verkäste Inguinaldrüsen, Leber sehr blutreich, vergrößert, mit kleinen Knötchen besetzt, die an einer Stelle des unteren Randes der Leber konfluieren. Milz schwach vergrößert, eine peritoneale nicht verkäste Drüse. In der Lunge zahlreiche frische glasige T.-B.

Miskroskopisch: T.-B. positiv.

2. Tier. (Sicher tuberkulös.) Das Tier war am 30. IX. 12 mit Urin, in dem keine T.-B. nachweisbar waren, infiziert worden. Am 30. X. 12 wurde die rechte Inguinaldrüse exstirpiert und T. B. darin nachgewiesen.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Zehnpfennigstückgroße Quaddel, um die Einstichstelle weißer, anämischer Fleck.
2. Tag: Rötung, Quaddelbildung, großer Druckschmerz.
3. Tag: Rötung abgeklungen.
5. Tag: Nekrose um die Einstichstelle.
6. Tag: Nekrose viel stärker.

Resultat der Impfung: † † †.

Am 15. I. 13 Intrakutanprüfung; 107 Tage nach der Impfung. Am 23. I. 13 Sektion. Befund: Inguinaldrüsen kirschkerngroß, Milz und Leber stark vergrößert und mit Knötchen durchsetzt. In der Lunge beginnende Knötchenbildung.

Mikroskopisch: T.-B. positiv.

3. Tier. (Sicher tuberkulös.) Das Tier war am 2. X. 12 mit Cerebrospinalflüssigkeit subkutan infiziert worden. Im Ausstrich waren keine T.-B. nachweisbar. Durch das Paralleltier war am 27. XII. 12 die Diagnose: Tbk. gestellt worden.

Am 15. I. 13 intrakutane Tuberkulinprüfung; 105 Tage nach der Infektion. Resultat: † † †.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Leichte Rötung der Haut im Umkreis der Einstichstelle.
2. Tag: Intensive Rötung, starke, ca. zweimarkstückgroße Infiltration, Druckschmerz.
3. Tag: Sehr starke Reaktion, etwas bläuliche Verfärbung.
5. Tag: Beginnende Nekrose um die Einstichstelle.
6. Tag: Starke Nekrose.

Am 23. I. 13 Sektion. Befund: Rechte Inguinaldrüse kirschkerngroß, linke linsengroß, Leber vergrößert, einige Knötchen aufweisend. Milz stark vergrößert und mit reichlichen Knötchen besetzt. Lunge infiltriert und mit T.-B. übersät. Retroperitoneale Drüsen o. B.

Mikroskopisch: T.-B. positiv.

4. Tier. (Sicher tuberkulös.) Am 9. X. 12 geimpft mit Urin, in welchem keine T.-B. nachgewiesen sind.

Am 13. XI. 12 Drüsenexstirpation mit T. B.-Nachweis.

Am 15. I. 13. Intrakutane Tuberkulinimpfung; 88 Tage nach der Infektion.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Um die Einstichstelle ca. linsengroßes Infiltrat.
2. Tag: Infitrat stärker, Rötung gering.
3. Tag: Infiltrat stärker, Rötung gering.
5. Tag: 3 kleine Nekrosen.
6. Tag: 3 kleine Nekrosen.

Resultat: † † †.

Am 23. I. 13 Sektion. Befund: Rechte Inguinaldrüse haselnußgroß, Packet von 3 Drüsen, links Inguinaldrüse mit der Bauchwand verwachsen, Leber vergrößert mit Knötchen und gelblich verfärbten Streifen am Rande. Milz stark vergrößert und mit Knötchen besetzt. Peritoneale und mesenteriale Drüsen vergrößert. Die Lunge weist frische, opake und glasige Knötchen auf. An den unteren Teilen besonders zahlreich.

Mikroskopisch: T.-B. positiv.

5. Tier (sicher tuberkulös).

Am 11. XI. 12 geimpft mit Urin, der keine T.-B. aufweist.

Am 27. XI. 12 Drüsenexstirpation mit T.-B.-Nachweis.

Am 15. I. 13 intrakut. Tuberkulinimpfung; 65 Tage nach der Impfung.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Zweimarkstückgroße Infiltration, diese nur bei Faltung der Haut, nicht aber beim Darüberstreifen zu bemerken.
2. Tag: Zweimarkstuckgroße Rötung und Infiltration. In deren Mitte um die Einstichstelle porzellanweißer, ca. pfenniggroßer Bezirk. Druckschmerz.
3. Tag: Nekrose an der gestern weißen Stelle, aber kleiner als diese.
5. Tag: Nekrose pfenniggroß.
6. Tag: Nekrose pfenniggroß mit Zellenbildung.

Resultat: † † †.

Am 22. I. 13 Sektion. Befund: Tbk. aller Organe.

Mikroskopisch: T.-B. positiv.

6. Tier. (Sicher tuberkulös.) Am 31. X. 12 infiziert mit einem auf Tbk. verdächtigen Gewebsstück, in dem keine T.-B. nachweisbar waren.

Am 19. I. 13 Drüsenexstirpation mit Nachweis von T.-B.

Am 15. I. 13 intrakut. Tuberkulinprüfung; 76 Tage nach der Impfung

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Zweimarkstückgroße Infiltration mit leichter Rötung.
2. Tag: Rötung ausgesprochener.
3. Tag: Sehr starke Rötung, um die Einstichstelle weißer Hof, Druckempfindlichkeit.
5. Tag: Nekrose mit großer Druckempfindlichkeit.
6. Tag: Nekrose pfennigstückgroß, ganz schwarz.

Resultat: † † †.

Am 23. I. 13 Sektion. Befund: Leber stark vergrößert, Milz ebenso, beide mit reichlichen Knötchen besetzt, in der Lunge auch zahlreiche Tuberkelknötchen, Drüsen vergrößert.

Miskroskopisch: T.-B. in allen Organen positiv.

7. Tier. (Kontrolltier I.) Gesundes Tier.

1. Tag: Einstichstelle sichtbar; auch an den ff. Tagen; keine Reaktion, keine Druckschmerzhaftigkeit.

8. Tier. (Kontrolltier II.) Gesundes Tier.

1. Tag: Einstichstelle sichtbar; keine Reaktion; keine Druckschmerzhaftigkeit, auch an den ff. Tagen.

## 2. Versuchsreihe.

In der 2. Versuchsreihe wurden intrakutan geimpft:

a) 2 auf Tbk. verdächtige Tiere,
b) 1 sicher tuberkulöses Tier (I. Kontrolle),
c) 1 gesundes Tier (II. Kontrolle).

Die beiden verdächtigen Tiere waren zurzeit der intrakutanen Prüfung bereits so lange infiziert, daß ihre reguläre Tötung schon vor längerer Zeit hätte stattfinden sollen. Es war vorher keine Tbk. nachweisbar gewesen. Ich betone ausdrücklich, daß es mir fern lag, im E s c h schen Sinne die intrakutane Prüfung zu einer Schnelldiagnose auszuprobieren, sondern mich lediglich ihrer als Hilfsmittel bediente.

1. Tier (fraglich). Am 13. XI. 12 Infektion mit Urin, in welchem T. B. nicht nachweisbar waren.

Am 24. I. 13 intrakut. Tuberkulinprüfung; 71 Tage nach der Impfung.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Geringe Infiltration.
2. Tag: Geringe Rötung mit Druckschmerz.
3. Tag: Weißer Hof um die Einstichstelle mitten in der Rötung.
4. Tag: Beginnende Nekrose um die Einstichstelle.
5. Tag: Stärkere Nekrose mit bläulicher Verfärbung.
6. Tag: Schwarzfärbung der nekrotischen Stelle.
8. Tag: Nekrose pfenniggroß, sehr druckempfindlich.

Resultat: † † †.

Am 4. II. 13 Sektion. Befund: Starke Tbk. der Drüsen, Lunge enthält meist glasige, frische Tuberkel, Leber und Milz vergrößert und mit Knötchen besetzt, mediastinale und mesenteriale Drüsen verkäst. Mikroskopisch: T.-B. in allen Organen positiv.

2. Tier. (Fraglich.) Am 13. XI. 12 infiziert mit Urin, in dem Tbk. nicht nachweisbar war.

Am 24. I. 13 intrakut. Tuberkulinprüfung; nach 72 Tagen.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Geringe Rötung und Infiltration.
2. Tag: Exitus an Stallsauche.

Am 26. I. 13 gestorben. Sektion. Befund: Tbk. der inneren Organe; Milz und Leber vergrößert und mit Knötchen besetzt. Inguinaldrüsen wenig verkäst.

Mikroskopisch: T.-B. nachweisbar.

3. Tier. (I. Kontrolltier.) Sicher tuberkulös. Am 30. IX. 12 infiziert mit Urin, in welchem keine T.-B. nachgewiesen werden konnten.

Dieses Tier wies bereits am 6. XI. Drüsenschwellung auf. Am 30. X. war bei einem Paralleltier in einer exstirpierten Drüse Tbk. nachweisbar.

Am 24. I. 13 intrakut. Tuberkulininjektion; nach 116 Tagen.

Verlauf der Impfung:

1. Tag: Leichte Rötung.
2. Tag: Leichte Rötung mit Infiltration und großem Druckschmerz.
3. Tag: Sehr großer weißer Hof um die Einstichstelle.
4. Tag: Beginnende Nekrose, bläulich verfärbt.
5. Tag: Starke Nekrose, schwarz.
6. Tag: Rötung um die Nekrose, diese mit Delle versehen.
8. Tag: Nekrose pfenniggroß.

Resultat: † † †.

Am 4. II. 13 Sektion. Befund: Lunge, Leber und Milz weisen zahlreiche Knötchen auf, Drüsen verkäst. Mikroskopisch in allen Organen T.-B.

4. Tier. (II. Kontrolltier.) Gesundes Tier.

Am 24. I. 13 intrakut. Tuberkulinprüfung.

1. Tag: Einstichstelle sichtbar; auch an den ff. Tagen; keine Reaktion.

Da in beiden Versuchsreihen die sicher tuberkulösen Tiere eine charakteristische Reaktion aufwiesen, die gesunden Tiere aber nicht, so ist die intrakutane Tuberkulinprüfung ein sehr willkommenes Hilfsmittel, die Entscheidung herbeizuführen, wann man eine Tiertötung vornehmen soll. Man wird diese dann häufig früher wagen dürfen und auf diesem Wege in vielen Fällen schneller zur Diagnose gelangen als bisher.

Als besonders charakteristisch für eine positiv ausgefallene Tuberkulinimpfung ist mir die Druckempfindlichkeit der Tiere im Bereich der Impfstelle aufgefallen. Diese Druckempfindlichkeit war bei den gesunden Kontrolltieren nie vorhanden, so daß ich auf dieses Kriterium einer positiven Reaktion hinweisen möchte.

Zum Schluß spreche ich Herrn Professor Dr. Rimpau für die liebenswürdige Überlassung des Materials, sowie ihm und Herrn Dr. G. Seiffert für die Anregung zu dieser Arbeit an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

## Literatur.


1. H. Aronson, Zur Biologie der T.-B. Berl. klin. Woch. 1910, Nr. 35, S. 1617.
2. Karl Berger, Vergleichende färberische Nachprüfungen der von Ziehl-Nehlsen, Much und Gasis empfohlenen Färbemethoden. Zentr.-Bl. f. Bakt., I. Abt. O. B. 53, H. 2.
3. Betheg, Über eine Methode zur Darstellung der Sporen und Struktur bei den säurefesten Bakt. Zentr.-Bl. f. Bakt., I. Abt. O. B. 52, H. 4, S. 550.
4. Betheg, Über eine neue Methode zur Darstellung der T.-B.-Sporen. Zentr.-Bl. f. Bakt., I. Abt. O. B. 49, H. 3, S. 461.
5. W. Beyer, Über die neuere T.-B.-Färbung nach Gram und ihre Bedeutung für die Sputumuntersuchung. Med. Klin. 1910, Nr. 22.
6. Bittrolff und Momose, Zur Frage des granul. Tbk.-Virus. Deutsche Med. Wochenschr. 1912, Nr. 1.
7. A. Bloch, Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 17, S. 511 u. S. 1393.
8. Boas und Ditlefsen, Über das Vorkommen des Muchschen Tbk.-Virus bei Lupus vulgaris. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 46, S. 2106.
9. Joh. Böhm, Über die verschiedenen Färbemethoden der T.-B. und deren kritische Rezension. Zentr.-Bl. f. Bakt. Bd. 62, S. 497.
10. Alb. Caan, Vergleichende Untersuchung über neuere Methoden zur T.-B.-Pilzfärbung. I. Abt. Zentr.-Bl. f. Bakt. O. B. 49, H. 6, S. 637.
11. Davidson, Berl. klin. Wochenschr. 1907, S. 1393.
12. Georg Deycke, Zur Biochemie d. T.-B. Münchn. Med. Wochenschr. 1911, Nr. 12, S. 633.
13. Georg Deycke und Much, Berl. klin. Wochenschr. 1910, S. 1913.
14. H. Dold, Über neuere Methoden der Färbung der T.-B. mit besonderer Berücksichtigung ihrer differentialdiagnost. Bedeutung. Arbeiten aus dem K. G. A. 1911, Bd. 36, S. 43.
15. Eisenberg, Über neuere Methoden etc. Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 8.
16. Esch, Die Anwendung der intrakut. Tuberkulinreaktion als Hilfsmittel zum beschleunigten Nachweise von T. B. durch den Tierversuch. Münchn. Med. Wochenschr. 1912, Nr. 39, S. 2092.
17. Esch, Zur Frage des Tbk.-Nachweises durch den beschleunigten Tierversuch. Münchn. Med. Wochenschr. 1913, Nr. 4, S. 187.
18. Fontes, Untersuchung über die chem. Natur der dem T.-B. eigenen Fett- und Wachsarten und über die Phänomene der Säureresistenz. Zentr.-Bl. f. Bakt., I. Abt. O. B. 49, S. 317, 909.
19. Fligg, Inaug.-Diss. Tierärztl. Hochschule 1908 s. Ref. Münchn. Med. Wochenschr. 1909, S. 201.
20. Frei, Über einige Anreicherungs- und Färbemethoden des T.-B. im Sputum. Zentr.-Bl. f. Bakt. Bd. 61, S. 411.

21. Gasis, Über eine neue Reaktion der T.-B. und eine darauf begründete differentialdiagnost. Färbemethode derselben. Zentr.-Bl. f. Bakt., 1. Abt. O. B. 50, S. 111.
22. Gasis, Ein weiterer Beitrag zu meiner neuen diff. Färbungsmethode der T.-B. Berl. klin. Wochenschr. 1909, S. 836.
23. Geipel, Über die granuläre Form des T.-B. Münchn. Med. Wochenschr. 1909, Nr. 22.
24. Jahresberichte der Kgl. Bayer. Untersuchungsanstalten 1911.
25. Joanovic und Käpsammer, Berl. klin. Wochenschr. 1907, S. 1493.
26. Jacobitz und Kayser, Münchn. Med. Wochenschr. 1910, Nr. 22.
27. W. Knoll, Warum ist es berechtigt, der Granulaform d. Tbk.-Virus Sporencharakter zuzuschreiben? Korr.-Bl. f. Schweiz. Ärzte Nr. 2.
28. Krylow, Über die Bedeutung und das Vorkommen der Muchschen Granula. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh. Bd. 70, S. 135.
29. E. Leschke, Über die granuläre Form d. Tbk.-Virus. Zentr.-Bl. f. Bakt. 1911, Bd. 59, S. 366.
30. Liebermeister, Über die nach Ziehl nicht darstellbare Form d. T. B. Deutsche Med. Wochenschr. 1909, Nr. 28.
31. Marmann, Beiträge zur Bedeutung der Muchschen Granula im Sputum Tuberkulöser. Arch. f. Hyg. Bd. 76, 1912, S. 245.
32. H. Much, Über die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form d. Tbk.-Virus. Beitr. zur Klin. d. Tbk. Bd. 8, 1907, S. 85.
33. H. Much, Über die nicht säurefesten Formen d. Kochschen T.-B. Beiträge zur Klin. d. Tbk. Bd. 8, 1908, S. 357.
34. H. Much, Die nach Ziehl nicht darstellbaren Formen der T.-B. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 14, S. 691.
35. H. Much, Granula und Splitter. Beitr. zur Klin. d. Tbk. 1908, Bd. 11, S. 77.
36. Rud. Oppenheimer, Tbk.-Nachweis durch beschleun. Tierversuch. Münchn. Med. Wochenschr. 1911, Nr. 41, S. 2164.
37. Rud. Oppenheimer, Zur Frage des Tbk.-Nachweises durch beschleunigt. Tierversuch. Münchn. Med. Wochenschr. 1912, Nr. 51, S. 2817.
38. Römer, Über intrakut. Tuberkulinwirkung zu diagnost. Zwecken. Brauer, Beitr. zur Klin. d. Tbk. Bd. 12, Nr. 1.
39. Römer und Joseph, Prognose u. Inkubationsstadium bei exper. Meerschweinchen-Tbk. Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 28, S. 1300.
40. Steph. Rosenblat, Über die granuläre Form d. Tbk.-Virus. Münchn. Med. Wochenschr.
41. Rosenblat (Bern), Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden des T. B. nebst einem Beitrag zur Morph. dieser Mikroorganismen. Zentr.-Bl. f. Bakt. Bd. 58, S. 173.
42. Rosenblat (Bern), Erwiderung auf die vorstehende Arbeit (Leschkes Arbeit). Zentr.-Bl. f. Bakt. 1911, Bd. 59.
43. Salus, Tierversuch und Nieren-Tbk. Berl. klin. Wochenschr. 1903, S. 1150.

44. Spengler, Über Splittersputa Tuberkulöser. Zeitschr. f. Hyg. 1905, Bd. 49, S. 541.
45. Schern und Dold, Beitr. z. Frage der Schnelldiagnose d. T.-B. nebst Untersuchungen über säurefeste Stäbchen im Wasser. Arbeiten aus d. K. G. A. Bd. 38, H. 2.
46. Schottmüller, Über die klin. Bedeutung der nicht nach Ziehl, sondern nach Gram färbbaren Wuchsformen des Tbk.-Virus. Münchn. Med. Wochenschr. 1908, Nr. 99, S. 2564.
47. Schulz, Über die granuläre Form d. Tbk.-Virus im Lungenauswurf. Deutsche Med. Wochenschr. 1909, Nr. 36.
48. Veröffentlichungen d. Med. Verwalt. Preußens 1910.
49. Weber, Über die T.-B.-ähnlichen Stäbchen und d. Baz. d. Smegmas. Arbeiten aus d. K. G. A. Bd. 19, S. 251.
50. Weiß, Über den Gehalt käs. kreidiger Lymphdrüsen an T.-B. Münchn. Med. Wochenschr. 1909, S. 443.
51. Leonh. Weiß, Zur Morphol. d. Tbk.-Virus unter besonderer Berücksichtigung einer Doppelfärbung. Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 40.
52. Weihrauch, Beiträge zur Färbung d. T.-B. und Granula im Sputum. Zeitschr. f. Tbk. 1907, Bd. 14.
53. Wirths, Die Muchschen Granula und die Karl Spenglerschen Splitter. Beitr. z. Klin. d. Tbk. 1908, Bd 51, S. 73.
54. Wirths, Über die Muchsche granuläre Form d. Tbk.-Virus. Münchn. Med. Wochenschr. 1908, S. 1687.
55. P. Wolff, Über latentes Vorkommen der Muchschen Form d. T.-B. Münchn. Med. Wochenschr. 1909, Nr. 45, S. 2312.

---

## Lebenslauf.

Ich bin geboren am 28. April 1887 zu Königshütte O. S. als Sohn des Kaufmanns Salomon Keins. Ich besuchte 7 Jahre lang die Realschule zu Königshütte und 3 Jahre lang die Ober-Realschule zu Kattowitz, die ich im Jahre 1907 mit dem Reifezeugnis verliess. Dem Studium der Medizin widmete ich mich in München (1.—4. 7. und 9.—10. Sem.) Jena (5. Sem.) Berlin (6. und 8. Sem.) Die ärztliche Vorprüfung vollendete ich im Beginne des 7. Sem. und das Staatsexamen nach dem 10. Sem. in München. Im Praktikantenjahre arbeitete ich in München an der K. bact. Untersuchungsanstalt ½ Jahr und an der K. pädiatr. Poliklinik ½ Jahr. Im September 1913 wurde ich approbiert. Ich liess mich im Februar 1914 in München als practischer Arzt nieder.